

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



FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

**BACTERIES MULTI-RESISTANTES ISOLEES
AU SEIN DE L'UNITE DE REANIMATION DU
SERVICE DES URGENCES MEDICO-
CHIRURGICALES DU CHU DE BLIDA**

Thèse d'exercice présentée en vue de l'obtention du diplôme de « Docteur en Pharmacie »
Session juin 2017

Présentée par :

- ASSEME Bouchra
- BOUCEHLA Rahil

Devant le jury :

- BEROUAKEN.S : Maître assistante en microbiologie –USDB - Présidente
- OUKID.S : Maître assistante en microbiologie -USDB - Examinatrice
- SLIMANI.R : Maître assistante en anesthésie réanimation –USDB - Examinatrice
- AZROU.S : Maître assistante en microbiologie - USDB - Promotrice

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



FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

**BACTERIES MULTI-RESISTANTES ISOLEES
AU SEIN DE L'UNITE DE REANIMATION DU
SERVICE DES URGENCES MEDICO-
CHIRURGICALES DU -CHU DE BLIDA**

**Thèse d'exercice pour l'obtention du diplôme de « Docteur en Pharmacie »
Session juin 2017**

Présentée par :

- ASSEME Bouchra
- BOUCEHLA Rahil

Devant les jurys :

- BEROUAKEN.S : Maître assistante en microbiologie - USDB - Présidente
- OUKID.S : Maître assistante en microbiologie - USDB - Examinatrice
- SLIMANI.R : Maître assistante en anesthésie réanimation –USDB - Examinatrice
- AZROU.S : Maître assistante en microbiologie - USDB - Promotrice



REMERCIEMENTS

*Tout d'abord, nous remercions **ALLAH**, notre créateur de nous avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous adressons nos grand remerciements à **Dr. AZROU.S**, notre encadreur qui a proposé le thème de cette thèse, pour ses conseils et de nous avoir dirigée tout le long de notre travail.*

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement :

***Dr. BEROUAKEN.S** pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude à **Dr. OUKID.S** et à **Dr. SLIMANI.R** pour avoir examiné et évalué cette thèse. Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieux conseils et remarques.*

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles et nos chers amis qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui ont participé à la réalisation de cette thèse. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut. . .

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, le respect, la reconnaissance. . .

Aussi, c'est tout simplement que

Je dédie cette thèse :

À ma chère mère **Fatiha** ;

À mon père **Abdelkrim** ;

À tous mes proches de la famille **ASSEME**,

Et plus

Particulièrement, mes sœurs et mes frères tout à son nom

Et sans

Oublier les familles **HAMADI** et **KARROUCH** ;

À tous mes chers amis et mes collègues de l'Université de

Saad Dahleb ;

À tous ce qui m'ont enseigné tout au long de mes études ;

Et aux personnes qui m'ont toujours soutenu.

Bouchra

Dédicaces

À mes très chers parents Boucehla Brahim et Aichaoui Souad

Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur l'ampleur de l'amour, l'attachement, la reconnaissance et l'admiration qui j'éprouve pour vous.

Vos sacrifices et vos efforts sans limites furent pour moi un constant encouragement

Que dieu vous garde et vous accorde longue vie pour que je puisse à mon tour vous combler

À mon cher mari Abdelkader Bedrani

Merci de m'apporter tant de joie, je te remercie pour tout et en particulier pour sa patience et ses encouragements

À tous mes frères et sœurs, à mes beaux-parents, à mes amis ainsi que toute la famille Boucehla, Aichaoui et Bedrani

Je vous dédie ce simple travail

Rahil

RESUME

Les infections nosocomiales causées par les bactéries multi résistantes (BMR) constituent un véritable problème de santé publique particulièrement dans les unités des soins intensifs.

L'objectif de notre travail est d'évaluer le taux des BMR et leur implication en pathologie au sein de l'unité de réanimation.

Nous avons mené une étude rétrospective s'étalant sur une période de **02** ans allant du **01/01/2015** au **31/12/2016**. La date du début de l'étude correspond à la date d'inauguration de l'unité de réanimation du service des UMC du CHU Blida.

Ainsi, nous avons recensé **624** prélèvements dont **283 (45,35%)** sont revenus positifs et sur lesquels **443** souches bactériennes étaient isolées. Parmi ces souches, **169** étaient des BMR soit un taux de **38.15%**.

La BMR prédominante est l'*Acinetobacter baumannii* multi-résistant avec un taux de **47.33%** (**80 /169** souches), suivi des Enterobacteries productrices de -lactamases à spectre élargi avec un taux de **33.72%** (**57/169** souches), de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline avec **14.20%** (**24/169** souches) et enfin de *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistant avec **4.73%** (**8/169** souches).

Les BMR proviennent essentiellement des prélèvements distaux protégés avec un taux de **41.4%** (**70/169**).

La surveillance et la lutte contre la multi-résistance bactérienne est nécessaire dans les unités de réanimation.

Mots clés : Réanimation – Infections nosocomiales - Bactéries multi-résistantes - *Acinetobacter baumannii*- Prévention.

العدوى الناجمة عن البكتيريا متعددة المقاومة (BMR) تشكل مشكل حقيقي للصحة العامة لا سيما في وحدات العناية
الهدف من مذكرتنا هو تقييم نسبة (BMR) وتسببها في الأمراض داخل وحدة الإنعاش.

لهذا قمنا بدراسة استرجاعية استغرقت مدة عامين بدءا من 2015/01/01 الى غاية 2016/12/31، تاريخ بدء
الدراسة هو ذاته تاريخ افتتاح وحدة الإنعاش للمستشفى الجامعي بالبلدية. تم إجراء عملية عزل واكتشاف (BMR)
داخل المختبر المركزي في ذات المؤسسة وكل العينات المسحوبة بغية تشخيصها أخذت من مرضى يعالجون في
الوحدة الجديدة.

624 عينة من بينها 283 (45.3%) كانت موجبة، والتي تم عزل 443 سلالة بكتيريا منها. من بين هاته
169 سلالة كانت عبارة عن (BMR) بنسبة مقاومة متعددة تقدر ب 38.15%. (BMR) السائدة هو
الراكة البومانية متعدد المقاومة بنسبة تقدر ب 47% (169/80) (متبوعا بالمعويات المفترزة للبيتاكتامازات
الطيف الموسع بنسبة 34% (169/57)). العينة الأغنى بال(BMR) هي السحب البعيد المحمي (PDP) .
41.4% (169/70).

مراقبة ومكافحة البكتيريا متعددة المقاومة ضروري في وحدات الإنعاش.

ية: الإنعاش، بكتيريا متعددة المقاومة، الراكدة البومانية، سحب بعيد محمي، مكافحة.

Abstract

Infections caused by multidrug-resistant bacterium (BMR) are a real public health problem, particularly in intensive care units.

The objective of our work is to evaluate the rate of BMR and their involvement in pathology in the resuscitation unit. We have conducted a retrospective study over a period of two years from **01/01/2015** to **31/12/2016**. The start date of the study corresponds to the date of the resuscitation unit's inauguration in the UMC service (Blida CHU).

So, **624** samples were collected, **283** of them (**45.3%**) returned positive, knowing that **443** bacterial strains were isolated, of these strains **169** were BMR. The multidrug-resistance rate was **38.15%**. The predominant BMR is the multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* with a rate of **47%** (**80/169** strains), followed by the extended spectrum β -lactamase producing enterobacteriaceae with a rate of **34%** (**57/169** strains). The richest BMR sample was the distal protected specimens with a rate of **41.4%** (**70/169**).

The surveillance and the fight against the bacterial multidrug-resistant is required in resuscitation services.

Key words: Resuscitation – Multidrug-resistant bacteria - *Acinetobacter baumannii* - Protected distal specimen - Fight.

TABLE DES MATIERES

| | |
|------------------------------|------|
| REMERCIEMENTS | III |
| RESUME | VI |
| LISTE DES TABLEAUX | XI |
| LISTE DES FIGURES | XII |
| LISTE DES ABREVIATIONS | XIII |
| INTRODUCTION | |

REVUE DE LA LITTERATURE

| | |
|--|-----------|
| CHAPITRE I : GENERALITES..... | 1 |
| I.1. RAPPEL SUR LA STRUCTURE BACTERIENNE..... | 1 |
| I.1.1. L'enveloppe cellulaire..... | 2 |
| I.1.2. Ribosomes | 3 |
| I.1.3. Acides nucléiques | 3 |
| I.2. ANTIBIOTIQUES : | 3 |
| I.2.1. Définition des antibiotiques | 3 |
| I.2.2. Chronologie de la découverte des antibiotiques | 4 |
| I.2.3. Classification des ATB..... | 4 |
| I.2.3.1. Antibiotiques actifs sur la biosynthèse du peptidoglycane | 5 |
| I.2.3.2. Antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique | 9 |
| I.2.3.3. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines | 9 |
| I.2.3.4. Antibiotiques actifs sur la synthèse et le fonctionnement des acides nucléiques.. | 10 |
| I.2.4. Résistance aux antibiotiques | 10 |
| I.2.4.1. Définition de la résistance..... | 10 |
| I.2.4.2. Les types de la résistance | 11 |
| I.2.4.3. Supports génétiques de la résistance..... | 11 |
| I.2.4.4. Les mécanismes biochimiques de la résistance..... | 11 |
| CHAPITRE II : BACTERIES MULTI-RESISTANTES | 13 |
| II.1. DEFINITION DES BACTERIES MULTI-RESISTANTES..... | 13 |
| II.2. LES DIFFERENTES BMR..... | 13 |
| II.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM)..... | 14 |
| II.2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> (Rappel) :..... | 14 |
| -Définition | 14 |
| -Habitat | 15 |
| -Pouvoir pathogène | 15 |
| -Résistance naturell | 15 |
| II.2.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM) :..... | 15 |
| -Définition | 15 |
| -Historique..... | 15 |
| -Mécanisme de résistance..... | 15 |
| II.2.2. Enterobactéries sécrétrices de -lactamase à spectre étendu (EBLSE)..... | 16 |
| II.2.2.1. Les Enterobactéries (Rappel) :..... | 16 |
| -Définition..... | 16 |
| -Habitat | 16 |

| | |
|---|-----------|
| -Pouvoir pathogène | 16 |
| -Résistance naturelle | 17 |
| II.2.2.2. Les Enterobactéries sécrétrices de β -lactamases à spectre élargi (EBLSE) : | 18 |
| -Définition | 18 |
| -Historique | 18 |
| -Mécanisme de résistance | 18 |
| II.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirésistant PAMR..... | 19 |
| II.2.3.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Rappel) : | 19 |
| -Définition..... | 19 |
| -Habitat..... | 20 |
| -Pouvoir pathogène..... | 20 |
| -Résistance naturelle | 20 |
| II.2.3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirésistant « PAMR » :..... | 20 |
| -Définition | 20 |
| -Historique | 20 |
| -Mécanisme de résistance..... | 21 |
| II.2.4. <i>Acinetobacter baumannii</i> multirésistant (ABMR)..... | 22 |
| II.2.4.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> (Rappel) :..... | 22 |
| -Définition..... | 22 |
| -Habitat | 22 |
| -Pouvoir pathogène | 22 |
| -Résistance naturelle | 23 |
| II.2.4.2. <i>Acinetobacter baumannii</i> multirésistant (ABMR) :..... | 23 |
| -Définition | 23 |
| -Historique..... | 23 |
| -Mécanisme de résistance | 23 |
| II.3. SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DES PRINCIPALES SOUCHES BACTERIENNES MULTI-RESISTANTES..... | 24 |
| II.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline..... | 24 |
| II.3.2. Entérobactéries sécrétrices de β -lactamases à spectre étendu..... | 25 |
| II.3.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multi-résistant | 26 |
| II.3.4. <i>Acinetobacter baumannii</i> multirésistant | 27 |
| | |
| CHAPITRE III : PRINCIPALES INFECTIONS EN REANIMATION..... | 27 |
| III.1. DEFINITION..... | 27 |
| III.2. FACTEURS DE RISQUE D'ACQUISITION..... | 27 |
| III.3. MODES DE TRANSMISSION..... | 28 |
| III.4 DIFFERENTES IN DANS LES SERVICES DE REANIMATION..... | 28 |
| III.4.1. Infections des voies respiratoires et pneumopathies | 28 |
| III.4.2. Infections urinaires..... | 29 |
| III.4.3. Infections du site opératoire ISO..... | 29 |
| III.4.4. Infections sur cathéter (KT) vasculaire..... | 29 |
| III.4.5. Bactériémies /Septicémies..... | 30 |

| | |
|--|-----------|
| CHAPITRE IV : DETECTION DES BACTERIES MULTI-RESISTANTES AU LABORATOIRE | 31 |
| IV.1. METHODES DE LA DETECTION PHENOTYPIQUE | 31 |
| IV.1.1. Méthodes manuelles..... | 31 |
| IV.1.2. Méthodes automatisés..... | 31 |
| IV.2. METHODES DE LA DETECTION GENOTYPIQUE | 33 |
| IV.2.1. Détection des SARM par biologie moléculaire | 33 |
| IV.2.2. Détection des EBLSE par biologie moléculaire | 34 |
| IV.2.3. Détection de la résistance chez <i>P.aeruginosa</i> par biologie moléculaire | 34 |
| IV.2.4. Détection de la résistance chez <i>A.baumannii</i> par biologie moléculaire | 34 |
| | |
| CHAPITRE V : TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE..... | 35 |
| V.1. Traitement des infections à BMR..... | 35 |
| V.1.1. Traitement des infections à SARM..... | 35 |
| V.1.2. Traitement des infections à EBLSE | 35 |
| V.1.3. Traitement des infections à PAMR..... | 35 |
| V.1.4. Traitement des infections à ABMR | 36 |
| V.2. Maîtrise de la diffusion des bactéries multi-résistantes en réanimation | 36 |
| V.2.1. Critères de choix du programme de maitrise des BMR dans un service ou un établissement de santé (ES)..... | 36 |
| V.2.2. Programme de maitrise des BMR..... | 37 |
| V.2.2.1. Programme de maitrise des BMR à transmission croisée..... | 37 |
| V.2.2.1.1. Identification précoce des patients infectés ou colonisés | 37 |
| V.2.2.1.2. Mise en place des précautions standard et complémentaires | 37 |
| V.2.2.2. Programme de maitrise des BMR « à pression de sélection » | 38 |

LA PARTIE PRATIQUE

| | |
|--|-----------|
| CHAPITRE VI : MATERIEL ET METHODES..... | 39 |
| <i>Protocole, durée et objectifs de l'étude</i> | 39 |
| VI.1. MATERIELS | 40 |
| VI.1.1. Matériels non biologiques | 40 |
| VI.1.2. Matériels biologiques | 41 |
| VI.1.2.1. Les prélèvements | 41 |
| - <i>Les hémocultures</i> | 41 |
| - <i>Le liquide Céphalo-rachidien "LCR"</i> | 41 |
| - <i>Les urines</i> | 41 |
| - <i>Divers (pus et sérosité)</i> | 42 |
| - <i>Les prélèvements distaux protégés PDP</i> | 42 |
| VI.1.2.2. Souches de référence | 43 |
| VI.2. METHODES : ETUDE BACTERIOLOGIQUE..... | 44 |
| VI.2.1. Examen macroscopique | 45 |
| VI.2.2. Examen microscopique | 45 |
| VI.2.3. Mise en culture (<i>Isolement des bactéries</i>) | 45 |
| VI.2.4. Identification des bactéries | 45 |
| VI.2.5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques | 46 |
| VI.2.5.1. <i>Antibiogramme par diffusion des disques</i> | 47 |

| | |
|--|----|
| VI.2.5.2. Les tests complémentaires | 47 |
| A- Recherche de la résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> à la méticilline | 47 |
| -Screening test..... | 47 |
| -Les techniques de diffusion des disques de l'oxacilline et de céfoxitine | 48 |
| -Test d'agglutination au latex pour la détection de la PLP2a | 49 |
| B- Recherche des BLSE chez les entérobactéries..... | 50 |
| -Test de synergie | 50 |
| -Test de confirmation ou technique du double disque | 51 |
| C- Recherche de la résistance chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i> | 52 |
| -Antibiogramme par diffusion | 52 |
| -Détermination de la CMI par bandelettes E-test | 53 |

| | |
|---|--------------|
| CHAPITRE VII : RESULTATS | 54 |
| CHAPITRE VIII : DISCUSSION | 62 |
| RECOMMANDATIONS | 66 |
| CONCLUSION | |
| REFERENCES..... | XV |
| ANNEXES | XXVII |
| RESUME | |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|--------------|
| Tableau 1 : Liste des pénames avec leurs spectres d'action | 6 |
| Tableau 2 : Liste des céphèmes avec leurs spectres d'action | 7 |
| Tableau 3 : Liste des carbapénèmes, oxapénames, monobactames et leurs spectres d'action | 8 |
| Tableau 4 : Les mécanismes d'échappement des bactéries à l'action des ATB..... | 11 |
| Tableau 5 : L'apparition des résistances chez quelques espèces bactériennes | 13 |
| Tableau 6 : La résistance naturelle des entérobactéries | 17 |
| Tableau 7 : Profil de sensibilité des Enterobacteries productrices de betalactamases | 18 |
| Tableau 8 : Fréquences d'isolement des EBLSE par espèce bactérienne en Algérie (2015) | 24 |
| Tableau 9 : Les précautions complémentaires | 38 |
| Tableau 10 : Le matériel non biologique disponible au laboratoire de microbiologie | 40 |
| Tableau 11 : Les souches de référence utilisées au laboratoire de microbiologie | 43 |
| Tableau 12 : Identification des bactéries concernées | 46 |
| Tableau 13 : Recherche de la résistance à l'oxacilline et interprétation des tests (méthode de diffusion des disques) | 48 |
| Tableau 14 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i> | 52 |
| Tableau 15 : Valeurs critiques de CMI (IMP) pour <i>A.baumannii</i> | 53 |
| Tableau 16 : Répartition des prélèvements reçus selon le type et par année | 54 |
| Tableau 17 : Les valeurs des CMI (IMP) chez 35 souches d' <i>A.baumannii</i> | 60 |
| Tableau 18 : Listes des ATB avec leurs spectres d'action | XXXI |
| Tableau 19 : Caractères biochimiques des entérobactéries | XXXIV |
| Tableau 20 : Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries non exigeantes | XLII |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|--------|
| Figure 1 : Représentation schématique d'une bactérie | 1 |
| Figure 2 : Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i> au microscope électronique | 14 |
| Figure 3 : Aspect d' <i>E.coli</i> au microscope électronique..... | 16 |
| Figure 4 : Aspect de <i>P.aeruginosa</i> au microscope électronique | 19 |
| Figure 5 : Aspect d' <i>A.baumannii</i> au le microscope électronique | 21 |
| Figure 6 : Le Phoenix..... | 32 |
| Figure 7 : Le Vitek 2..... | 32 |
| Figure 8 : Un flacon d'hémoculture..... | 41 |
| Figure 9 : Un prélèvement de LCR..... | 41 |
| Figure 10 : Un échantillon d'urines..... | 42 |
| Figure 11 : Un prélèvement de pus..... | 42 |
| Figure 12 : Un PDP..... | 42 |
| Figure 13 : Les différentes souches ATCC utilisées au niveau de laboratoire de microbiologie | 43 |
| Figure 14 : Démarche de diagnostic bactériologique..... | 44 |
| Figure 15 : Antibiogramme par diffusion des disques..... | 46 |
| Figure 16 : Test à l'oxacilline (Screening test)..... | 48 |
| Figure 17 : <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à l'oxacilline (SAMR)..... | 48 |
| Figure 18 : Test d'agglutination au latex (la détection de la PLP2a)..... | 49 |
| Figure 19 : Souche de <i>K.pneumoniae</i> productrice de β -lactamase à spectre élargi..... | 50 |
| Figure 20 : Souche d' <i>E.coli</i> productrice de β -lactamase à spectre élargi..... | 50 |
| Figure 21 : Test du double disque positif..... | 51 |
| Figure 22 : Un antibiogramme d'un <i>A.baumannii</i> toto-résistant..... | 52 |
| Figure 23 : Un antibiogramme du <i>P.aeruginosa</i> | 52 |
| Figure 24 : Répartition du nombre des bactéries isolées selon le type de prélèvement et par année..... | 55 |
| Figure 25 : Répartition des souches de BMR isolées par l'année d'isolement..... | 56 |
| Figure 26 : Répartition des BMR isolées selon le type du prélèvement..... | 56 |
| Figure 27 : Répartition des BMR isolées selon l'espèce bactérienne..... | 57 |
| Figure 28 : Répartition des différentes BMR isolées selon le type de prélèvement..... | 58 |
| Figure 29 : Taux de BMR au sein des principales bactéries isolées..... | 58 |
| Figure 30 : La résistance des Staphylocoques à la méticilline..... | 59 |
| Figure 31 : Répartition des Enterobactéries selon le profil BLSE | 59 |
| Figure 32 : La multi-résistance chez <i>A.baumannii</i> | 60 |
| Figure 33 : Les résistances associées des SARM..... | 61 |
| Figure 34 : Les résistances associées aux autres antibiotiques des EBLSE..... | 61 |
| Figure 35 : La composition des enveloppes des bactéries Gram à (+) et Gram à (-)..... | XXIX |
| Figure 36 : Représentation simplifiée du peptidoglycane..... | XXIX |
| Figure 37 : Sites d'action des antibiotiques lors de la synthèse de la paroi..... | XXX |
| Figure 38 : Mécanismes de la résistance bactérienne aux ATB | XXXIII |
| Figure 39 : Les principales espèces d'entérobactéries impliquées dans les pathologies humaines | XXXIV |

LISTE DES ABREVIATIONS

- **AARN** : Algerian Anti-bacterial Resistance Network
- **A.baumannii** : *Acinetobacter baumannii*
- **ABMR** : *Acinetobacter baumannii* multirésistant
- **ABRI** : *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème
- **ACE** : Acinetobacter Chromosomal Enzyme
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **AMC** : Amoxicilline + Acide Clavulanique.
- **AMP** : Ampicilline.
- **AMX** : Amoxicilline.
- **ARN** : Acide ribonucléique.
- **ATB** : Antibiotique.
- **ATCC** : American Type Culture Collection
- **ATM** : Aztréonam
- **BGN** : Bacilles à Gram Négatif.
- **BGP** : Bacilles à Gram Positif.
- **BHRe** : Bactéries Hautement Résistantes émergentes
- **BL-IBL** : -lactamine -Inhibiteurs de -lactamases
- **BLSE** : -lactamase à spectre élargi.
- **BMR** : Bactéries multi-résistantes
- **BTR** : Bactéries toto-résistantes
- **C** : Celsius
- **CAZ** : Ceftazidime
- **CAZ-R** : Résistant à la ceftazidime
- **CGN** : Cocci à Gram négatif
- **CGP** : Cocci à Gram positif
- **CHU** : Centre Hospitalo-Universitaire.
- **CIP** : Ciprofloxacine
- **CIP-R** : Résistant à la ciprofloxacine
- **CLSI** : Clinical and Laboratory Standard Institute.
- **cm** : Centimètre.
- **CMI** : Concentration minimale inhibitrice.
- **COL** : Colistine
- **CRO** : Ceftriaxone
- **CTX** : Céfotaxime
- **CTX-M** : Céfotaximase-Munich.
- **C1G** : Céphalosporines de première génération.
- **C2G** : Céphalosporines de deuxième génération.
- **C3G** : Céphalosporines de troisième génération.
- **DDJ** : Dose définie journalière
- **EARS** : European Antimicrobial Resistance Surveillance
- **EBCASE** : Entérobactéries résistantes aux -lactamines par hyperproduction de céphalosporinases
- **EBLSE** : Entérobactéries sécrétrices de -lactamase à spectre élargi.
- **E.cloacae** : *Enterobacter cloacae*
- **E.coli** : *Escherichiacoli*
- **EPC** : Entérobactéries productrices de carbapénémases.
- **ERG** : Entérocoques résistants aux glycopeptides
- **ERV** : Entérocoques résistants à la

-
- vancomycine
 - **ES** : Etablissement de santé.
 - **FHA** : Friction Hydro-Alcoolique
 - **FOX** : Céfoxitine
 - **GEN** : Gentamicine
 - **GISA** : Staphylococcus aureus de sensibilité diminuée aux glycopeptides
 - **GN** : Gélose nutritif
 - **h** : Heure
 - **I** : Intermédiaire
 - **IMP** : Imipénème
 - **IMP-R** : Résistant à l'imipenem
 - **IN** : Infection nosocomiale
 - **InVS** : Institut de veille sanitaire
 - **ISO** : Infection du site opératoire.
 - **IU** : Infection urinaire.
 - **KP ou *K.pneumoniae***: *Klebsiella pneumoniae*
 - **KT** : Cathéter
 - **LCR** : Liquide céphalo-rachidien
 - **MH** : Muller Hinton.
 - **mm** : Millimètre
 - **mn** : Minute
 - **ml** : Millilitre
 - **MLS** : Macrolides, lincosamides et streptogramines
 - **µm**: Micro mètre
 - **MYSTIC** : Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection.
 - **NIT** : Nétilmicine
 - **OMS** : Organisation mondiale de santé.
 - **oprD** : Opéron D
 - **OXA** : Oxacilline
 - ***P.aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*
 - **PAMR** : *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant
 - **PCR** : Polymerase chain reaction
 - **PDP** : Prélèvement distal protégé.
 - **PIP** : Pipéracilline.
 - **PLP** : Protéines liant la pénicilline
 - ***P.mirabilis*** : *Proteus mirabilis*
 - **R** : Résistant
 - **S** : Sensible
 - **SARM** : *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline
 - **SASM** : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline.
 - ***S.aureus*** : *Staphylococcus aureus*
 - **SCCmec** : Staphylococcal Cassette Chromosome mec
 - **SHV** : Sulf Hydryl Variable
 - **spp** : Species
 - **TCC** : Ticarcilline + acide clavulanique
 - **TCY** : Tétracycline
 - **TEM** : Temoneira
 - **TIC** : Ticarcilline
 - **TZP** : Pipéracilline + tazobactam
 - **UMC** : Urgences Médico-Chirurgicales
 - **UDP** : Uridine diphosphate
 - **VISA** : *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée à la vancomycine
 - ° : Degré

« Au lieu de s'ingénier à tuer les microbes dans les plaies ne serait-il pas plus raisonnable de ne pas les introduire ? »

Louis Pasteur

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis toujours, les bactéries sont à l'origine de nombreuses infections humaines, certaines mortelles.

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

L'accumulation de la résistance a fait naître des bactéries multi résistantes (BMR) définies par l'efficacité d'un nombre restreint d'antibiotiques vis-à-vis de ces dernières. L'apparition des BMR a entraîné des échecs thérapeutiques, d'autant plus que l'industrie pharmaceutique peine à commercialiser de nouvelles classes d'antibiotiques.

Les services de réanimation, « épicerie de la résistance aux antibiotiques », sont et resteront le lieu où les infections nosocomiales à BMR sont les plus fréquentes. Le risque de contracter ce type d'infections s'est accru avec l'évolution des pratiques de soins et de recrutement des patients en réanimation.

Les infections nosocomiales par les BMR représentent un problème de santé publique majeur. Elles sont responsables d'une haute morbi-mortalité, d'une durée de séjour et d'un fardeau financier important.

Le laboratoire de microbiologie joue un rôle essentiel dans le diagnostic et la prévention des infections en général et en particulier celles causées par des BMR. En effet, les microbiologistes sont les seuls à pouvoir détecter la multi-résistance grâce à des techniques appropriées.

Le laboratoire de microbiologie est le premier à signaler, donc à donner l'alarme en cas de BMR. Il intervient en outre dans la surveillance épidémiologique des bactéries.

Le présent travail effectué au niveau du laboratoire central, unité de microbiologie du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Blida, illustre ces thématiques, en exposant les principales catégories de BMR isolées dans l'unité de réanimation des Urgences Médico-Chirurgicales (UMC).



**REVUE DE LA
LITTERATURE**

CHAPITRE I :

GENERALITES

CHAPITRE I : GENERALITES

I.1. Rappel sur la structure bactérienne :

Les bactéries sont des procaryotes qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire, et qui sont :

- le nucléoïde,
- le cytoplasme,
- les ribosomes,
- l'enveloppe cellulaire (composée d'une membrane cytoplasmique et d'une paroi bactérienne).

Certaines bactéries peuvent avoir aussi :

- un/des flagelles,
- pili communs et/ou sexuels,
- une capsule,
- plasmides [91].

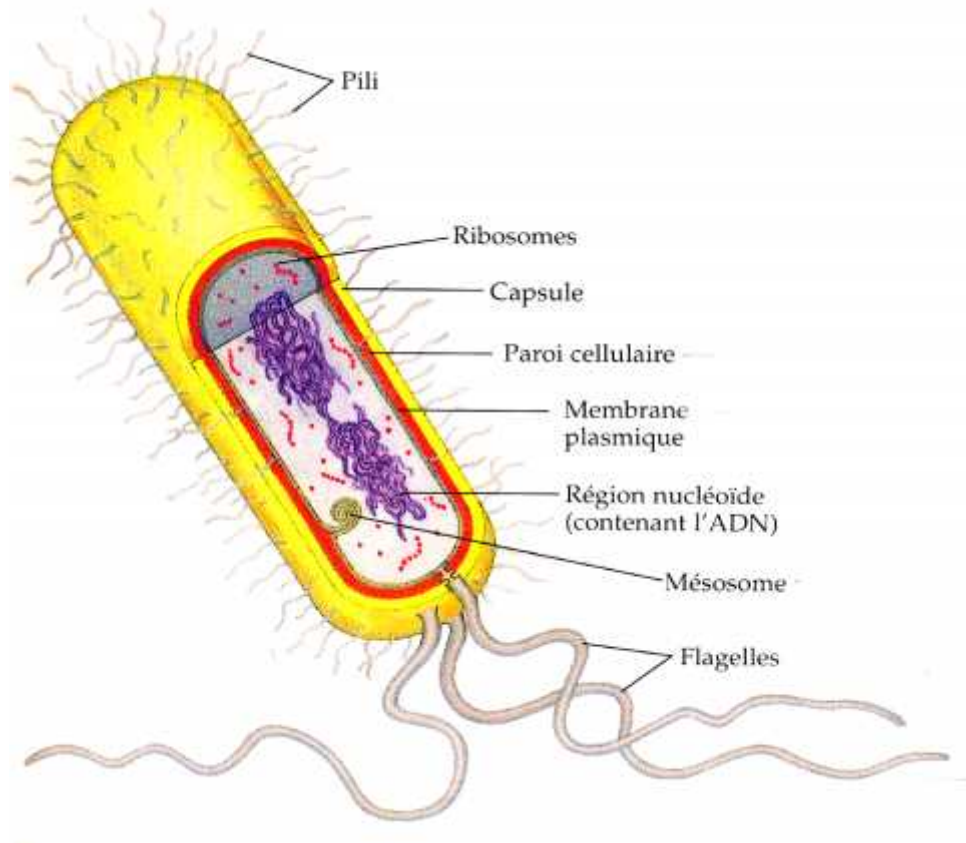


Figure 1 : Représentation schématique d'une bactérie [156].

La connaissance de la composition de la bactérie et le fonctionnement de chaque composant, permettent d'apprécier les mécanismes d'action des antibiotiques.

I.1.1. L'enveloppe cellulaire

La structure de l'enveloppe cellulaire englobe plusieurs couches différentes : une membrane cytoplasmique, une paroi bactérienne, et une capsule lorsqu'elle est présente [157].(Annexe I)

I.1.1.1. La paroi bactérienne :

- **Définition :**

La paroi est un élément essentiel de la structure bactérienne, elle est constituée d'une ou de plusieurs couches de peptidoglycane où de polymères acides (acides teichoïques et acides lipoteichoïques) sont insérés [91].

Le rôle de la paroi est d'assurer la forme générale et de participer à la protection de la cellule bactérienne [91].

La coloration de Gram met en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, ce qui permet de classer les bactéries selon leur morphologie (cocci, bacille) et leur propriété tinctoriale (Gram positif, Gram négatif) [158].

- **Structure du peptidoglycane :**

Sa structure est commune chez toutes les bactéries. C'est un hétéropolymère composé de chaînes glucidiques (où s'alternent la N-acétylglucosamine et l'acide N-acétylmuramique) reliées par des chaînons peptidiques [91]. (Annexe II)

- **Biosynthèse du peptidoglycane :**

La synthèse du peptidoglycane est complexe et nécessite l'activité de trente enzymes différentes. Elle comporte trois étapes principales :

- **Une étape intra cytoplasmique** : aboutissant à la synthèse d'Uridine diphosphate (UDP)-acétylmuramyl-pentapeptide terminé par un dipeptide ; le D-alanyl-D-alanine. Cette étape nécessite l'intervention de la pyruvyl transférase.

- **Une deuxième étape membranaire** : aboutit à la formation d'un polymère d'acétylglucosamine et d'UDP-acétylmuramyl-dipeptide. Ce polymère sort du cytoplasme à travers la membrane cytoplasmique.

- **Une troisième étape extracytoplasmique** : comporte une polymérisation par transpeptidation (liaison peptidique entre acides aminés) et par transglycosylation (liaison glucidique). Ces réactions enzymatiques sont médiées par des carboxypeptidases, des transpeptidases et des transglycosylases. Pour des raisons historiques, elles sont dénommées « Protéines Liant les Pénicillines (PLP) » [91].

I.1.1.2. La membrane cytoplasmique :

La membrane cytoplasmique des bactéries se distingue de celle des cellules eucaryotes par l'absence de stérols (sauf pour les mycoplasmes).

Cette membrane est la limitante externe du cytoplasme. Elle est constituée d'une double couche d'unités de phospholipides (35 %) et de protéines qui lui sont associées (65 %). Certaines de ces protéines jouent un rôle dans la synthèse du peptidoglycane, qui sont les PLP [159-160].

I.1.2. Ribosomes :

Les ribosomes sont des complexes ribonucléoprotéiques (composés de protéines et d'acide ribonucléique ARN) présents dans les cellules eucaryotes et procaryotes. Leur fonction est de synthétiser les protéines en décodant l'information contenue dans l'ARN messager. Leur structure est composée de deux sous-unités :

- la sous-unité 30S : qui traduit l'ARN messager.
- la sous-unité 50S : qui se charge de la synthèse de la protéine correspondante [161].

I.1.3. Acides nucléiques :

Comme tous les protistes procaryotes, les bactéries possèdent un matériel génétique constitué d'un enchaînement linéaire de nucléotides (acide désoxyribonucléique ADN) ou de ribonucléotides (ARN).

- L'acide désoxyribonucléique (ADN) : c'est le support de l'information génétique. Il est formé de deux brins antiparallèles enroulés l'un autour de l'autre pour former une double hélice dans le cytoplasme grâce à l'action des topoisomérases (ADNgyrase).

- L'acide ribonucléique (ARN) : qui possède de très nombreuses fonctions dans la cellule, notamment le transport de l'information génétique [160].

Autres : L'acide folique ou folate est impliqué dans la synthèse des acides nucléiques et de certains acides aminés, il est fabriqué par les bactéries à partir des éléments présents dans leur milieu [160-162].

I.2. Antibiotiques :

La découverte des antibiotiques, constitue une avancée thérapeutique qui a grandement révolutionné l'histoire de la médecine. Les antibiotiques ont permis de sauver d'innombrables vies menacées par des infections autrefois fatales [163].

I.2.1. Définition des antibiotiques :

(Du grec anti = contre, bios = la vie) [109].

Les antibiotiques sont des molécules d'origine naturelle ou synthétique à action spécifiquement antibactérienne (bactéricides ou bactériostatiques)[126].

I.2.2. Chronologie de la découverte des antibiotiques :

Chronologie de découverte des antibiotiques :

1928 : découverte de l'action antibiotique du « *Penicillium notatum* » par *Alexander Fleming*.

1929 à 1941 : les pénicillines.

1936 : les sulfamides.

1946 : le chloramphénicol.

1946 – 1950 : les aminosides.

1949 : les tetracyclines.

1952 : les macrolides.

1956 - 1973 : les glycopeptides.

1960 : les quinolones.

1962 : les streptogamines.

1962 - 1976 : les céphalosporines de 2^{ème} et de 3^{ème} génération.

1978 : les fluoroquinolones.

1979 - 2000 : Oxazolodionone et linézolide.

2003 : Daptomycine [136].

I.2.3. Classification des ATB :

Les ATB peuvent être classés selon leur :

- Origine : élaboré par un organisme naturel ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique) [124].
- Mode d'action : Les antibiotiques agissent de manière spécifique sur les bactéries en bloquant une étape essentielle de leur développement ; certains, inhibent la synthèse de leur paroi, d'autres se fixent sur la membrane cytoplasmique et perturbent sa perméabilité, il existe ceux qui inhibent la synthèse des protéines, et ceux qui inhibent la synthèse ou le fonctionnement des acides nucléiques [134].
- Spectre d'activité : selon la liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) [124].

- La nature chimique : est basée souvent sur une structure de base, permet de classer les antibiotiques en familles. Les principales familles utilisées en médecine humaine sont :
 - Les -lactamines
 - Les aminosides
 - Les macrolides et apparentés
 - Les polypeptides
 - Les glycopeptides
 - Les cyclines
 - Les quinolones
 - Les phénicolés
 - Les sulfamides et leurs associations
 - Les nitrofuranesIl existe d'autres ATB qui ne sont pas classés, tels que : Rifampicine, Acide fusidique, Fosfomycine.... [126].

Les ATB contrairement, aux antiseptiques, agissent sur les bactéries en inhibant des fonctions physiologiques précises [164]. Pour exercer leur action, ils doivent se lier à des cibles moléculaires spécifiques, le plus souvent intracellulaires.

Pour mieux comprendre les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques décrits dans ce chapitre, on adoptera la classification par mode d'action et par familles.

- Action sur la biosynthèse de la paroi : inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane : -lactamines, Glycopeptides et Fosfomycine. (**Annexe III**)
- Action sur la membrane cytoplasmique : Polymyxines, Lipopeptides cycliques.
- Action sur la synthèse des protéines : Aminosides, Macrolides et apparentés, Cyclines, Phénicolés et Acide fusidique.
- Action sur la synthèse nucléique : Quinolones, Rifampicine, Sulafamide et Trimethoprime [124].

1.2.3.1. Antibiotiques actifs sur la biosynthèse du peptidoglycane :

- **Les -lactamines :**

Les -lactamines sont les ATB les plus prescrits en ville et à l'hôpital, bactéricides, efficaces, peu toxiques et leur spectre d'activité est variable en fonction de groupe et sous-groupe de molécules.

La Pénicilline G est l'ancêtre historique de cette famille qui comporte plus de 50 spécialités. Cinq groupes sont décrits : les pénames, les pénèmes, les oxapénames, les céphèmes et les monobactames [44-46].

Pénames : Ce groupe d'antibiotiques se subdivise en plusieurs sous-groupes représentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Liste des pénames avec leurs spectres d'action [124].

| Sous-groupes | Antibiotiques (DCI) | Spectre d'activité |
|--|---|--|
| <p>Pénicilline G et ses dérivés</p> <p>Sensibles aux pénicillinases</p> | <p>Parentérales :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Benzyl Pénicilline (pénicilline G) -Benzyl Pénicilline-procaine -Bénéthamine-benzylpénicilline -Benzathine- benzylpénicilline <p>Orales :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Phénoxy méthyle pénicilline (pénicilline V) | <p>Cocci à Gram (+) :</p> <p>Streptocoques (groupe A, C, G et B), Pneumocoques sensibles.</p> <p>Cocci à Gram (-) :</p> <p><i>Neisseria</i> (surtout <i>Neisseria meningitidis</i>).</p> <p>Bacilles à Gram (+) :</p> <p><i>Corynebacterium diphtheriae</i>, <i>Bacillus anthracis</i> <i>Listeria monocytogenes</i>, Anaérobies.....</p> |
| <p>Pénicillines M (antistaphylococciques)</p> <p>Résistantes aux pénicillinases</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Mécicilline (retirée du marchet) - Oxacilline - Isoxazolyl-pénicillines : <p>Cloxacilline, Dicloxacilline, Flucloxacilline.....</p> | <p>Staphylocoque producteur de pénicillinase. Staphylocoque sensibles à la mécicilline (SASM <i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la mécicilline)</p> |
| <p>Aminopénicillines (pénicillines à large spectre)</p> <p>sensibles aux pénicillinases</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Ampicilline - Dérivés de l'ampicilline : <p>Bacampicilline, Métampicilline Pivampicilline.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Analogues de l'ampicilline : <p>Amoxicilline.</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Entérobactéries du groupe I : <p><i>Escherichia coli</i>, <i>Salmonelle</i>, <i>Shigelle</i>, <i>Proteus mirabilis</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Listeria monocytogenes</i> - <i>Barthionella spp</i> - <i>Haemophilus influenzae</i> b sensible (pénicillinase-) - <i>Neisseria meningitidis</i> - Streptocoques (groupes A, C, G) <p>Inactifs sur :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Entérobactéries du groupe II et III : <p><i>Klebsiella</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Serratia</i>, <i>Citrobacter</i> et <i>Proteus indole+</i>. <i>-Pseudomonas et Acinetobacter</i></p> |
| <p>Carboxy-pénicillines</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Carbénicilline, Ticarcilline | <ul style="list-style-type: none"> -<i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter</i> -Bacilles à Gram (-) résistants à l'ampicilline. -Entérobactéries productrices de céphalosporinases : <i>Citrobacter</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Serratia</i>, <i>Proteus indole+</i>. |

| | | |
|--|---|---|
| Acyl-amino-pénicillines (Uréido-pénicillines) | - Azlocilline - Mezlocilline - Pipéracilline | Entérobactéries productrices de céphalosporinases. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> |
| Amidino-pénicillines | - Mécillinam -Pivmécillinam | Actifs uniquement sur les bacilles à Gram (-). Pas d'action sur les Cocci à Gram (+) |
| Pénicillines sulfones : inhibiteurs de -lactamases utilisées en association avec une - lactamine | Ampicilline + Sulbactam Pipéracilline + Tazobactam | Bactéries à Gram (-) fermentaires Bactéries à Gram (-) oxydatives |

Céphèmes : En général, les céphèmes, céphamycines et oxacéphèmes, en dépit de leurs différences de structure sont souvent désignés en céphalosporines et classés selon leur activité antibactérienne en générations. Ce sont tous des produits à large spectre mais dont l'intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif [124].

Tableau 2 : Liste des céphèmes avec leurs spectres d'action [124].

| Sous-groupes | Antibiotiques (DCI) | Spectre d'action |
|--|---|--|
| Céphalosporines de 1ère génération (C1G) Sensibles aux céphalosporinases de nombreux bacilles à Gram (-) | - Injectables, instables métaboliquement : Céfalotine, Céfapirine. - Injectables, stables métaboliquement : Céfaloridine, Céfazoline - Céphalosporines orales : Céfalexine, Céfradine, Céfadroxil, Céfaclor | - SASM. -Streptocoques (sauf entérocoques) - <i>Haemophilus Influenzae</i> -Certains bacilles à Gram (-) (<i>E.coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , salmonelle.....) -Inactifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Proteus</i> indole + |
| Céphalosporines de 2ème génération (C2G) | - Injectables : Céfoxitine (Céfamycine), Céfuroxime, Céfamandole | - SASM - Streptocoques groupe A - <i>Streptococcus pneumoniae</i> - <i>Haemophilus Influenzae b</i> - Bacilles à Gram- -Inactifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Céphalosporines de 3ème génération (C3G) | - Injectables : Céfotaxime, Céftizoxime, Céftriaxone, Latamoxef (Oxacephem), Ceftazidime Cefménoxime, Cefpirome, Cefsulodine. - Orales : Céfixime | - Bacilles à Gram (-) : Enterobactéries, <i>Pseudomonas et Acinetobacter</i> (Ceftazidime et cefsulodine). - Cocci à Gram (+) : Pneumocoque, Streptocoque (sauf Entérocoque) - Cocci à Gram (-) |
| Autres céphalosporines | Cefepime, Cefpirone | - <i>Pseudomonas</i> - Cocci à Gram (-) - Entérobactéries |

Carbapénèmes, oxapénames et monobactames :

Tableau 3 : Liste des carbapénèmes, oxapénames, monobactames et leurs spectres d'action [124].

| Groupes | Antibiotiques (DCI) | Spectre d'action |
|--|--|--|
| Carbapénèmes | Imipénème, Méropénème Ertapénème, Faropenem | - Cocci à Gram (+) sauf SARM et <i>Enterococcus faecium</i> . - Cocci à Gram (-). -Bacilles à Gram (-) y compris <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - Bacilles à Gram (+) - Anaérobies. |
| Oxapénames ou clavams(acide clavulanique inhibiteurs de -lactamases utilisés en association avec une -lactamine | Amoxicilline + Acide clavulanique Ticarcilline + Acide clavulanique | - Bactéries à Gram (-) fermentaires - Bactéries à Gram (-) oxydatives |
| Monobactames | Aztréonam | Actif uniquement sur les bacilles à Gram (-) y compris <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -Inactif sur <i>Acinetobacter baumannii</i> |

Mode d'action : Les -lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane ; elles inhibent les PLP en se substituant au dipeptide D-alanyl-D-alanine par analogie structurale. L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes rondes ou filamenteuses qui aboutissent à la lyse bactérienne [103-124].

- **Les glycopeptides :**

Deux molécules sont comprises dans ce groupe : la vancomycine et la teicoplanine.

Elles ont une action bactéricide et leur spectre d'activité ne concerne que les bactéries à Gram positif car leur taille importante (les plus grosses molécules d'ATB) ne leur permet pas de franchir la membrane externe des bactéries à Gram négatif [151].

Elles ont une affinité pour les précurseurs du peptidoglycane. La fixation à ces précurseurs empêche l'allongement des chaînes polysaccharidiques (lors de l'étape de transglycosylation et transpeptidation) par encombrement stérique [32-102].

- **La fosfomycine :**

Cette molécule est bactéricide dont le spectre d'activité antibactérien est large (Gram + et Gram -) [124].

La fosfomycine (ou phosphomycine) inhibe la conversion de l'UDP-N-acétyl glucosamine en acide UDP-N-acétyl muramique en se liant par une liaison covalente à un résidu cystéine de la pyruvyltransférase. [165].

I.2.3.2. Antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique :

En raison de la similitude entre les membranes bactériennes et celles des cellules eucaryotes, seul un nombre restreint de molécules antibiotiques, dans cette catégorie, a trouvé une utilisation en thérapeutique humaine. Deux groupes sont distingués : les polymyxines et les lipopeptides [166].

- **Les polymyxines :**

Dans cette famille, seules la Polymyxine E (colistine) et la Polymyxine B sont utilisées en thérapeutique humaine. Ces molécules sont bactéricides à fortes doses. Leur spectre d'activité est limité aux bactéries à Gram négatif [167-168].

Elles possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-actifs. Elles agissent sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides d'où rupture de la barrière osmotique, ce qui provoque la mort de la cellule [124].

- **Les lipopeptides cycliques :**

Dans cette famille, seule la Daptomycine est représentée.

Cette molécule est bactéricide, son spectre d'activité est limité aux bactéries à Gram positif car elle ne traverse pas la membrane externe des bactéries à Gram négatif [124].

Son mode d'action repose sur une liaison à la membrane cytoplasmique via une liaison calcium-dépendante. Une fois dans la membrane plasmique du germe, la Daptomycine induit une formation de pores entraînant une fuite de potassium et une altération du potentiel membranaire. L'effet bactéricide est rapide [169].

I.2.3.3. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines :

Plusieurs familles d'antibiotiques inhibent la synthèse des protéines en agissant soit sur la sous-unité 30S soit sur la sous-unité 50S des ribosomes [134].

- **Les antibiotiques agissant sur la sous unité 30S des ribosomes sont :**

- **Les aminosides :** ce sont des antimicrobiens bactéricides à large spectre d'action. Elles se fixent au niveau du site du décodage des codons empêchant ainsi la traduction [124].
- **Les cyclines :** ce sont des ATB bactériostatiques à large spectre d'action. Elles bloquent l'élongation de la chaîne polypeptidique [124].

- **Les antibiotiques agissant sur la sous unités 50S des ribosomes sont :**

- **Les phénicolés :** ce sont des antimicrobiens bactériostatiques à large spectre d'action. Elles bloquent la formation de la liaison peptidique en inhibant la polymérase [124].
- **Les macrolides, lincosamides et streptogramines MLS :** ce sont des ATB bactériostatiques et qu'ils ont un spectre d'action étroit. Ils bloquent l'élongation de la chaîne polypeptidique [124].
- **Autres :**
- **Acide fusidique :** est une substance bactéricide utilisée comme anti staphylococcique. Il bloque l'action de facteur de la traduction qui permet la translocation du ribosome sur l'ARN messager [124].

I.2.3.4. Antibiotiques actifs sur la synthèse et le fonctionnement des acides nucléiques :

- Inhibiteurs de la synthèse de l'ARN :

- **Rifampicine** : c'est une substance bactériostatique à large spectre d'action. Ces antimicrobiens se lient à l'ARN polymérase ADN dépendante et inhibe l'initiation de la synthèse de l'ARN [124].

- Inhibiteurs de la synthèse de l'ADN :

- **Les quinolones et les fluoroquinolones** : les quinolones sont des bactériostatiques et ils ont un spectre d'action étroit contrairement aux fluoroquinolones qui sont bactéricides avec un spectre d'action plus large. Ces antimicrobiens se lient à l'ADNgyrase et empêchent le surenroulement de l'ADN inhibant ainsi sa synthèse [124].

- Inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique :

- **Sulfamide** : ces antimicrobiens sont des analogues de l'acide para-aminobenzoïque et inhibent de manière compétitive la formation de l'acide dihydroptéroïque.
- **Triméthoprime** : ces antimicrobiens se lient à la dihydrofolate réductase et inhibent la formation de l'acide tétrahydrofolique [124].

Les spectres d'activité des différents antibiotiques appartenant aux différentes familles citées au-dessus sont détaillés au niveau de l'**annexe IV**.

I.2.4. Résistance aux antibiotiques :

Il a été constaté que l'utilisation thérapeutique de chaque nouvel ATB s'accompagne de l'apparition d'une résistance bactérienne.

Des gènes conférant des phénotypes nouveaux de résistance sont régulièrement mis en évidence. Cette évolution est la conséquence de l'utilisation intensive des antibiotiques, phénomène décrit sous le terme de « pression de sélection » [170].

I.2.4.1. Définition de la résistance :

Une souche est dite résistante lorsqu'elle est capable de se développer en présence d'une concentration d'ATB plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. Cette résistance se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son support génétique et son mécanisme [56].

I.2.4.2. Les types de la résistance :

La résistance bactérienne peut être naturelle (intrinsèque) ou acquise (extrinsèque) :

- **Résistance naturelle :**

La résistance naturelle est commune à tout un genre bactérien. Elle se transmet toujours à la descendance de manière verticale et détermine les souches dites « sauvages ». Il s'agit alors d'un marqueur d'identification de la bactérie. Par exemple, les anaérobies sont naturellement résistants aux aminosides, les bactéries à Gram négatif aux glycopeptides, et les bactéries à Gram positif aux polymyxines [119-121].

- **Résistance acquise :**

La résistance acquise est l'acquisition d'un mécanisme de résistance à un ou plusieurs ATB, auxquels une souche d'une espèce bactérienne était auparavant sensible. Cela lui permet de tolérer une dose d'antibiotique plus élevée que d'autres souches de la même espèce.

Par exemple, l'acquisition d'une PLP exogène chez *Staphylococcus aureus* responsable de l'apparition de la résistance aux pénicillines M [29-171].

I.2.4.3. Supports génétiques de la résistance :

- La résistance naturelle est d'origine chromosomique, elle préexiste chez la bactérie, elle est spécifique, stable dont la transmission est verticale [121].

- Le support génétique de la résistance acquise aux antibiotiques est d'origine :

- Chromosomique : elle résulte d'une mutation, c'est un phénomène rare, transmissible sur un mode vertical et permanent [121].
- Extrachromosomique : lié à l'acquisition d'information génétique exogène à partir des éléments génétiques mobiles : plasmides, transposons ou intégrons ; par transduction, transformation ou par conjugaison bactérienne [109].

Elle est fréquente (80% des cas), contagieuse dont la transmission est horizontale et non spécifique, pouvant concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques entraînant une polyrésistance. Ces mécanismes peuvent être à l'origine d'épidémies bactériennes [68].

I.2.4.4. Les mécanismes biochimiques de la résistance :

Les bactéries peuvent échapper à l'action des ATB en jouant sur un des facteurs qui sont déterminants dans l'activité antibiotique.

Tableau 4 : Les mécanismes d'échappement des bactéries à l'action des ATB [44].

| Les conditions de l'activité d'un ATB | Mécanismes de la résistance bactérienne |
|--|---|
| -Posséder une cible bactérienne spécifique | -la cible peut muter, perdre son affinité pour l'ATB ou bien elle peut disparaître. Exemple : PLP2a chez le <i>S.aureus</i> résistant à la méticilline. |
| -Rester actif | -les bactéries peuvent dégrader l'ATB par production d'enzymes. Exemple : production des -lactamases à spectre élargi par les Enterobactéries. |
| -Accéder à la cible | -les bactéries peuvent devenir imperméables. Exemple : système d'efflux chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

Les bactéries ont développé de très nombreux mécanismes biochimiques de résistance dont la nature et l'efficacité varient selon les espèces et les ATB considérés [172]. Les principales stratégies connues sont : (**Annexe V**)

- **Inactivation enzymatique de l'ATB :**

Un des mécanismes de résistance les plus répandus et des plus efficaces. Il repose sur la production d'enzymes dont l'origine peut être intrinsèque ou extrinsèque à fin de modifier la structure de l'ATB (par clivage ou addition d'un groupement chimique) de façon à lui faire perdre sa capacité à se lier à sa cible cellulaire et, par voie de conséquence, à l'inhiber.

Ainsi, l'hydrolyse du cycle β -lactame par les β -lactamases empêche les β -lactamines de se fixer de façon covalente sur le site actif des PLP. Dans les années 1990, sont apparues des enzymes dérivant de pénicillinases, à spectre étendu, capables d'inactiver les C3G et nommées pour cette raison « β -lactamases à spectre élargi (BLSE) » [68].

- **Modification de la cible :**

-- Enzymatique : revient à produire des enzymes qui, en modifiant les cibles cellulaires, leur font perdre leur affinité pour les ATB.

-- Mutationnelle : en introduisant des substitutions d'acides aminés ou de bases nucléiques dans les cibles moléculaires, leur font perdre leur affinité pour les ATB. Exemple : intégration d'un gène *mecA* dans le chromosome chez *Staphylococcus aureus* induit la synthèse d'une nouvelle PLP « la PLP2a » [68].

- **Pompe à efflux :**

L'efflux des antibiotiques : phénomène qui consiste à éliminer l'antibiotique de la cellule à l'aide d'une pompe à extrusion, mécanisme utilisant une force motrice pour expulser une molécule dès qu'elle apparaît dans la cellule. Ce qui prévient et limite l'accès de l'ATB à sa cible [109].

- **Baisse de la perméabilité :**

Les ATB hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées « porines » [109].

La baisse de la perméabilité membranaire repose sur une réduction du nombre de porines. Il peut s'agir d'une diminution quantitative d'un ou de plusieurs types de porines ou d'une modification de la structure (la taille....) d'une des porines essentielles.

Exemple : perte de la porine *OpéronD* (*oprD*) chez *P.aeruginosa* responsable de la résistance à l'imipénème [124].

CHAPITRE II :
BACTERIES
MULTI-
RESISTANTES

CHAPITRE II : BACTERIES MULTI-RESISTANTES

La résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue aujourd'hui une menace planétaire. En effet, depuis la découverte de la pénicilline les bactéries se sont régulièrement adaptées aux différentes molécules d'antibiotiques introduites dans les schémas thérapeutiques des infections bactériennes, à telle point que certaines sont devenues multi-résistantes [173].

L'évolution de cette résistance caractérise la fin du XXème siècle, avec la description des bactéries multi-résistantes (BMR) [172].

Tableau 5 : L'apparition des résistances chez quelques espèces bactériennes [42].

| Date d'apparition de la résistance | ATB concerné | La bactérie résistante |
|------------------------------------|---------------|-------------------------------|
| 1940 | Pénicilline G | SARP |
| 1961 | Méticilline | SARM |
| 1981 | Céfotaxime | Entérobactéries |
| 1986 | Imipénème | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

SARP : *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline

II.1. Définition des bactéries multi-résistantes:

« Les bactéries sont dites multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) lorsque, du fait de l'accumulation de résistances naturelles et/ou acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique ». Ce petit nombre variant de 0 à 3. Les BMR ne sont cependant pas plus virulentes que les bactéries sensibles de la même espèce mais la multi-résistance peut rendre difficile le traitement [101-147].

II.2. Les différentes BMR :

Les bactéries multi-résistantes concernent aussi bien les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif.

- Parmi les souches à Gram positif, nous distinguons :
 - *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM).
 - *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides/ vancomycine (GISA/VISA).
 - Enterocoques résistants aux glycopeptides (ERG) et notamment les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV).
- Et parmi les souches à Gram négatif, nous distinguons :
 - Les Enterobactéries sécrétrices de -lactamase à spectre élargi (EBLSE).
 - Les Enterobactéries productrices de carbapénémases (EPC).
 - *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant (PAMR).

- Certaines catégories de bactéries multi-résistantes peuvent être rattachées à ce groupe :
 - Enterobactéries résistantes aux β -lactamines par hyperproduction de céphalosporinases (EBCASE).
 - *Acinetobacter baumannii* multirésistant (ABMR) [5-68].

Actuellement, les ERG, les ERV et les EPC sont considérées comme des bactéries hautement résistantes aux ATB (BHRe).

En Algérie, on n'a pas isolé à l'heure actuelle de souches GISA et de souches VISA.

Notre travail concerne uniquement les BMR suivantes : SARM- EBLSE- PAMR [essentiellement à la céftazidime (CAZ-R), à la ciprofloxacine (CIP-R) et à l'imipénème (IMP-R)] et ABMR [essentiellement à la céftazidime (CAZ-R), à la ciprofloxacine (CIP-R) et à l'imipénème (IMP-R)], en raison de leur fréquence élevée, de la gravité des infections nosocomiales dont elles sont responsables et de leur capacité à diffuser dans les services de réanimation.

II.2.1. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) :

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) est une espèce bactérienne importante en pathologie médicale. C'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes, ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines. Sa souche résistante à la méticilline (SARM) est l'une des principales BMR responsables d'infections nosocomiales [155].

II.2.1.1. *Staphylococcus aureus* (Rappel) :

- **Définition :**

S.aureus (staphylocoque doré) appartient à la famille des staphylococcaceae qui sont des cocci à Gram positif et qui s'organisent en amas ou en grappe de raisin.

S.aureus est une bactérie non exigeante aéro-anaérobie facultative capable de fermenter le glucose et de produire une catalase et une coagulase, elle est immobile et le plus souvent capsulée [59].

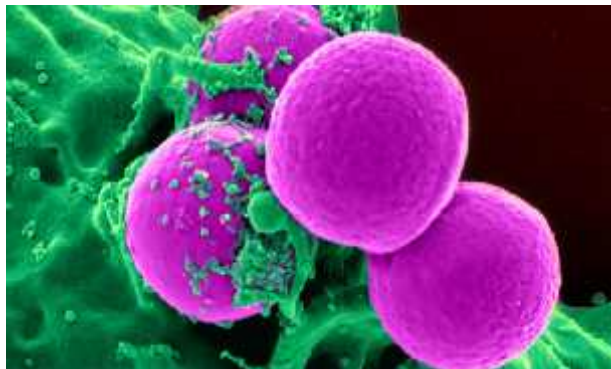


Figure 2 : Aspect de *Staphylococcus aureus* au microscope électronique [174].

- **Habitat :**

C'est un germe commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux [84].

- **Pouvoir pathogène :**

S. aureus peut impliquer chez l'humain de multi infections pyogènes : cutanée (furoncles, panaris, impétigo), cardiaque (endocardite), respiratoire (pneumonie), osseuse (ostéomyélite), systémique (septicémie) [175-176].

Ces infections sont liées à une série d'enzymes et de toxines extracellulaires comme les coagulases plasmatiques, les hémolysines, les leucocidines, les exfoliatines et la toxine du syndrome de choc toxique [59].

- **Résistance naturelle :**

Les souches sauvages de *S.aureus* n'ont aucune résistance vis-à-vis les bêtalactamines [127]. Par contre, elles sont résistantes aux quinolones [177].

II.2.1.2. Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) :

- **Définition :**

Le SARM est un staphylocoque qui a développé une résistance à la méticilline par modification de sa cible (PLP), cette résistance s'étend à toutes les bêtalactamines [16].

- **Historique :**

Les premières souches cliniques de SARM ayant été observées dès 1961, dans l'année qui a suivi la commercialisation de la méticilline. Vers 1980, les SARM étaient présents uniquement en milieu hospitalier. Puis, dans les années 2000, de nouveaux clones de cette bactérie ont été décrits comme responsables d'infections communautaires [112-129].

- **Mécanisme de résistance :**

La méticilline est une pénicilline M non hydrolysée par les pénicillinases. La résistance à la méticilline est principalement due à la production d'une nouvelle PLP, la « PLP2a » ayant une affinité diminuée pour les -lactamines. Cette PLP2a est une transpeptidase qui peut catalyser à elle seule l'assemblage du peptidoglycane lorsque les autres PLP sont saturées par les -lactamines [12-63].

La PLP2a est codée par le gène *mecA* situé sur un élément génétique mobile très particulier qui s'intègre sur l'ADN chromosomique et qui est appelé « Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* » ou « SCC*mec* », retrouvé uniquement chez les souches résistantes à la méticilline [14-73].

Pour les SARM hospitaliers, le gène *mecA* est porté par un élément chromosomique qui contient également d'autres gènes de résistance aux métaux lourds et à d'autres antibiotiques, rendant compte du profil de multi-résistance [178].

II.2.2. Enterobactéries sécrétrices de β -lactamase à spectre élargi (EBLSE) :

Parallèlement à l'utilisation massive des β -lactamines, les β -lactamases bactériennes ont évolué vers la diversification, l'élargissement de leur spectre d'activité, et leur diffusion parmi de nombreuses espèces d'entérobactéries [145].

Les EBLSE sont à l'origine d'infections potentiellement sévères et de prescription d'ATB à large spectre bactérien [148].

II.2.2.1. Les Enterobactéries (Rappel) :

- **Définition :**

Les Enterobacteriaceae constituent l'une des familles les plus importantes dans le monde bactérien. Cette famille comprend de nombreux genres répondant aux critères suivants :

- Bacilles à Gram négatif.
- Aéro-anérobies facultatifs.
- Mobiles ou immobiles.
- Facilement cultivables.
- Fermentent le glucose avec ou sans production de gaz.
- Réduisent les nitrates en nitrites.
- Dépourvus d'oxydase [56-89].

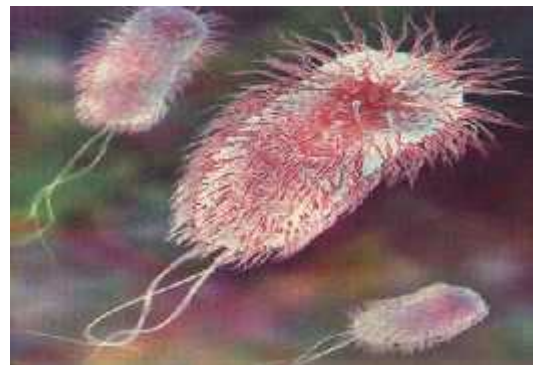


Figure 3 : Aspect d'*E.coli* au microscope électronique [179].

La famille des Enterobacteries comprend actuellement 100 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres : *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Yersinia*. (**Annexe VI**)

Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis, comme la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la présence ou l'absence d'enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases) [56-89] (**Annexe VII**).

- **Habitat :**

Les Enterobactéries sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés l'état commensal. Mais cette localisation digestive n'est pas exclusive. On les retrouve également dans l'environnement (sols, eaux) [149].

- **Pouvoir pathogène :**

Les espèces pathogènes possèdent une grande variabilité dans leur comportement et leur agressivité chez l'hôte. On distingue alors deux groupes d'entérobactéries pathogènes :

- Les Enterobactéries pathogènes opportunistes : Elles sont susceptibles de déclencher une infection chez un sujet immunodéprimé, elles sont retrouvées surtout en milieu hospitalier, ce qui les a mis sur le même pied que d'autres germes d'hôpitaux tels que le *Staphylococcus* et le *Pyocyanique* dans les infections respiratoires, urinaires et abdominales en particulier iatrogènes en post-opératoire.

Chez l'homme, les entérobactéries sont responsables d'environ 50% des infections nosocomiales. Exemple : *Serratia*, *Klebsiella* [180].

- Les entérobactéries pathogènes spécifiques : Leur présence dans l'organisme entraîne souvent une infection dont la gravité dépend de leur point d'entrée. Certaines espèces provoquent des pathologies spécifiques :

Salmonella typhi est l'agent responsable de la fièvre typhoïde ;

Shigella dysenteriae est l'agent responsable de la dysenterie bacillaire ;

Escherichia coli entérotoxique est l'agent responsable de gastro-entérite infantile ou GEI ;

Yersinia pestis est l'agent responsable de la peste [181].

- **Résistance naturelle :**

E.coli est une bactérie naturellement sensible à toutes les β -lactamines, malgré la présence d'une céphalosporinase chromosomique d'espèce de classe C qui est exprimée à très bas niveau (présente mais non détectable) [3]. Les résistances naturelles des autres espèces sont détaillées dans le tableau 6.

Tableau 6 : La résistance naturelle des Enterobactéries [123].

| Bactérie | AMP/ AMX | AMC | TIC/ PIP | C1G | FOX | GEN | TCY | COL | NIT |
|-------------------------|-------------|-----|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <i>Klebsiella spp</i> | R | | R | | | | | | |
| <i>C.koseri</i> | R | | R | | | | | | |
| <i>C.freundii</i> | R | R | | R | R | | | | |
| <i>E.cloacae</i> | R | R | | R | R | | | | |
| <i>E.aerogenes</i> | R | R | | R | R | | | | |
| <i>S.marcescens</i> | R | R | | R | | | | R | |
| <i>P.mirabilis</i> | | | | | | | R | R | R |
| <i>P.vulgaris</i> | R | | | R | | | R | R | R |
| <i>M.morganii</i> | R | R | | R | | | R | R | R |
| <i>P.stuartii</i> | R | R | | R | | R | R | R | R |
| <i>Y.enterocolitica</i> | R | R | R | R | R | | | | |

R = résistant

AMP : Ampicilline

AMX : Amoxicilline

TIC : Ticarcilline

PIP : Pipéracilline

C1G : Céphalosporine de 1^{ère} génération

FOX : Céfoxitine

GEN : Gentamicine

TCY : Tétracycline

COL : Colistine

NIT : Nétilmicine

II.2.2.2. Les Enterobactéries sécrétrices de β -lactamases à spectre élargi (EBLSE) :

- **Définition des EBLSE :**

Ce sont des Enterobactéries qui sécrètent des β -lactamases « Les β -lactamases sont des enzymes capables d'hydrolyser ou d'inactiver le cycle β -lactame » dont le spectre est élargi [81].

- **Historique :**

La première β -lactamase capable d'hydrolyser les C3G a été décrite en Allemagne en 1985. Elle a été produite par de *Klebsiella pneumoniae*.

Depuis les années 90, nous assistons à une diffusion des souches d'EBLSE, d'abord hospitalière [*K.pneumoniae* et *Enterobacter spp* « **TEM** » (TEMoniera du nom de la première patiente chez qui elle fut isolée) et de « **SHV** » (pour Sulf Hydryl Variable)] puis depuis une dizaine d'année dans la communauté [*E.coli* « **CTX-M** » (céfotaximase-Munich)] [5-110].

- **Définitions, classification et mécanisme de résistance des β -lactamases :**

Le principal mécanisme de résistance des entérobactéries aux β -lactamines est la sécrétion de β -lactamases. Celles-ci sont historiquement décrites en 4 classes selon la classification dite d'Amblar.

- Classe A : β -lactamases inhibées par l'acide clavulanique.
- Classe B : carbapénémases de type métallo-enzyme inhibées par l'EDTA (éthylène diamine tétra-acide).
- Classe C : les céphalosporinases non inhibées par l'acide clavulanique
- Classe D : oxacillinases de sensibilité variable à l'acide clavulanique [90-116].

Les BLSE appartiennent majoritairement à la classe A dans la classification d'Amblar comme elles peuvent appartenir à la classe D.

Les BLSE sont des enzymes, de type pénicillinase, qui hydrolysent toutes les β -lactamines même les C3G, excepté les inhibiteurs de β -lactamases, les céphamycines et les carbapénèmes. Leur support étant plasmidique, elles sont transférables de bactérie à bactérie, de même espèce ou d'espèces différentes. Elles sont souvent associées à des résistances à d'autres familles d'antibiotiques comme les aminosides et les fluoroquinolones [113-182].

Trois types de BLSE sont prépondérants : il s'agit de **TEM**, **SHV** et **CTX-M**. Les BLSE de type TEM ou SHV étaient essentiellement isolées chez *K.pneumoniae*, et CTX-M chez *E.coli* [131].

Ainsi TEM et SHV restaient essentiellement cantonnées à l'hôpital, alors que CTX-M diffusait beaucoup plus largement dans la communauté [142].

| β -lactamases | Pénicilline ampicilline | Amoxicilline / clavulanique | Ureidopénicilline pipérazilline | C1 céfotaxime | C2 céfuroxime | C3 céftazoxime céfépime | Carbapénème imipénème |
|---|----------------------------|--------------------------------|------------------------------------|------------------|------------------|-------------------------------|--------------------------|
| Pénicillinases (TEM1, 2, SHV1) | R | S | I/S | S | S | S | S |
| Pénicillinases hyper-produites | R | I/R | I/R | I/R | S/I/R | S | S |
| Céphalosporinases | R | R | S | R | I/R | S | S |
| BLSE (mutants TEM ou SHV, CTX-M) | <u>R</u> | S | <u>R</u> | <u>R</u> | <u>R</u> | <u>R/R</u> | S |

Sensible
 Résistance naturelle ou acquise

Tableau 7 : Profil de sensibilité des Enterobactéries productrices de β -lactamases [115].

II.2.3. *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant PAMR :

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie ubiquitaire pathogène opportuniste pouvant être à l'origine d'infections nosocomiales et communautaires. Elle se distingue par sa capacité à acquérir des résistances aux différents antibiotiques [51].

II.2.3.1. *Pseudomonas aeruginosa* (Rappel) :

- **Définition :**

Pseudomonas aeruginosa ou pyocyanique appartient au genre *Pseudomonas*, de la famille des *Pseudomonadaceae*. C'est un bacille à Gram négatif très fin asporulé, mobile grâce à un cil polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité. C'est une bactérie non exigeante, aérobie strict, elle possède une oxydase et une catalase. Ces bactéries peuvent produire deux pigments : la pyocyanine (vert-bleu) et la pyoverdine (jaune vert fluorescents) [52-82].



Figure 4 : Aspect de *P.aeruginosa* au microscope électronique [183].

- **Habitat :**

Pseudomonas aeruginosa est ubiquitaire, se retrouve particulièrement en milieu humide. C'est une bactérie de l'environnement hospitalier par excellence [184].

- **Pouvoir pathogène :**

P.aeruginosa est un agent pathogène opportuniste qui se retrouve dans une variété d'infections (le plus souvent chez les immunodéprimés) notamment des pneumonies, des bactériémies, des infections urinaires d'origine nosocomiale, mais également dans des infections de la peau et des tissus mous. Elle sévit particulièrement en milieu hospitalier surtout dans les services de réanimation [139-185].

P.aeruginosa peut sécréter un vaste éventail de toxines extracellulaires, notamment l'exotoxine A et des entérotoxines [96].

- **Résistance naturelle :**

P.aeruginosa est naturellement résistant à un grand nombre d'antibiotiques en raison :

- de la production d'une bêta-lactamase chromosomique inductible de classe C
- d'une mauvaise perméabilité membranaire (système d'efflux) [186].

P.aeruginosa est résistant aux : aminopénicillines, C1G, C2G, céfotaxime, ceftriaxone, kanamycine, tétracyclines, chloramphénicol, triméthoprime, quinolones [125].

II.2.3.2. *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant « PAMR » :

- **Définition :**

En l'absence d'une définition standardisée, la multi-résistance chez *P.aeruginosa* est habituellement décrite comme la résistance à au moins trois classes d'antibiotiques actifs sur les souches sauvages [38-111-135].

- **Historique :**

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème, a apparue pour la première fois en 1986 [42].

- **Mécanisme de résistance :**

Les souches de PAMR cumulent constamment plusieurs mécanismes de résistance par mutations et acquisitions de gènes [99]. L'analyse moléculaire de souches résistantes a montré la résistance de :

- *P.aeruginosa* à la CAZ : la résistance résulte des mutations entraînant une surproduction de la céphalosporinase constitutive AmpC, et une acquisition d'un gène plasmidique qui code pour une BLSE [7].

- *P.aeruginosa* à l'IPM : Le principal mécanisme de résistance aux carbapénèmes reste l'imperméabilité par mutation inactivatrice d'opéronD (*oprD*), gène codant la protéine D2. La perte de cette porine de la membrane externe confère une résistance de haut niveau à l'imipénème [95].

- *P.aeruginosa* à la CIP : La résistance à la ciprofloxacine dans cette espèce est exclusivement chromosomique. Elle émerge par mutations des gènes des topoisomérases II (*GyrA*) et/ou de ceux régulant l'expression des systèmes d'efflux. Les mutations de *GyrA* semblent pouvoir induire seules une résistance de haut niveau, cependant les systèmes d'efflux actif sont responsables d'une résistance de bas niveau [28-80].

II.2.4. *Acinetobacter baumannii* multirésistant (ABMR) :

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont restées très longtemps méconnues en raison de leur faible pouvoir pathogène et de leur taxonomie changeante. Depuis les années 1980, ces bactéries ont développé de multiples mécanismes de résistance vis-à-vis les ATB et ont pris une place importante parmi les BMR responsables d'infection nosocomiales, et plus particulièrement en réanimation [79].

II.2.4.1. *Acinetobacter baumannii* (Rappel):

- **Définition :**

Le genre *Acinetobacter* est rattaché à la famille des *Moraxellaceae* (qui comporte également le groupe *Moraxella-Psychrobacter*) [23-74].

A.baumannii est un coccobacille à Gram négatif, non fermentaire, immobile, aérobic stricte, catalase positive et oxydase négative. *L'Acinetobacter* croît rapidement sur les milieux nutritifs (gélose de sang de mouton ou de soja tryptique) à 37°C. Les colonies apparaissent lisses, opaques, de couleur jaune pâle à grisâtre [13-67-114].



Figure 5 : Aspect d'*A.baumannii* au le microscope électronique[187].

- **Habitat**

Bien que la plupart des espèces d'*Acinetobacter* soient ubiquitaires (sol, eau, végétaux, hommes), *A.baumannii* n'a pas de réservoir naturel connu en dehors de l'hôpital.

Lors d'épidémies hospitalières, *A. baumannii* est retrouvé dans l'environnement immédiat du malade (appareils de ventilation, lit, matelas, tables...) et dans l'environnement humide (siphons de lavabo, linge humide...) ainsi que sur les mains des soignants. En effet, ce germe possède une capacité de survie prolongée dans l'environnement, car il résiste bien à la dessiccation [75-78-118-150].

- **Pouvoir pathogène**

Acinetobacter baumannii est l'espèce impliquée dans les infections nosocomiales (90 à 95 % des *Acinetobacter* isolés des prélèvements pathologiques de patients sont des « *baumannii* ». *A.baumannii* est le plus souvent responsable de pneumopathies, en particulier chez les patients sous ventilation mécanique. Il peut aussi être la cause de bactériémies et plus rarement

d'infections de la peau et des tissus mous, d'infections urinaires, de méningites, d'endocardites, de kératites, et d'endophtalmies [114].

- **Résistance naturelle :**

A.baumannii est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques tels que les aminopénicillines, les C1G et les C2G, fosfomycine, triméthoprime ainsi que l'ertapénème, l'acide pipémidique et la norafloxacine (mais pas à l'acide nalidixique) [37].

Deux β -lactamases participent à la résistance naturelle de *A. baumannii* : AmpC (une céphalosporinase non inductible exprimée à bas niveau) et une oxacillinase [188].

II.2.4.2. *Acinetobacter baumannii* multirésistant (ABMR) :

- **Définition :**

Les espèces d'*Acinetobacter* sont des bactéries marquées par leur extrême capacité à acquérir des mécanismes de résistance, elles sont dites BMR lorsqu'elles présentent une résistance à la céftazidime (CAZ-R) et/ou à l'imipénème (IPM-R) et/ou à la ciprofloxacine (CIP-R). Comme elles peuvent être totorésistantes (BTR) lorsqu'elles sont résistantes à l'ensemble de ces ATB [23-55].

- **Historique :**

En l'espace de 40 ans, *A.baumannii*, est passé du statut de « bactérie sans grand intérêt en infectiologie » car peu pathogène et sensible à la plupart des antibiotiques commercialisés à cette époque, à celui de bactérie championne de la « multi-résistance » [37].

- **Mécanisme de résistance :**

Les mécanismes de résistance acquise sont extrêmement nombreux. Pour la :

- **CAZ-R** : résulte d'une hyperproduction des β -lactamases de type céphalosporinases (*Acinetobacter* Chromosomal Enzyme : ACE-1 et ACE-2) suite à une mutation chromosomique. Ces enzymes inhibent les C1G, C2G et C3G, les aminopénicillines, les ureidopénicillines...

- **IPM-R** : Le principal mécanisme de résistance aux carbapénèmes est la sécrétion de carbapénémases de type oxacillinases qui peuvent être quasi-spécifiques d'*A.baumannii*.

Il existe d'autres mécanismes : altération des PLP – modification de la perméabilité membranaire (modification de la structure des lipopolysaccharides).

- **CIP-R** : les mécanismes de résistance aux quinolones sont liés à une ou des mutations sur l'ADN-gyrase. Les souches présentant des CMI élevées vis-à-vis de la ciprofloxacine présentent une substitution de Serine-83 par une leucine et d'Alanine-84 par une proline [77-146].

II.3. Situation épidémiologique des principales souches bactériennes multi-résistantes :

II.3.1. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline :

- Dans le monde :

La prévalence des SARM dans le monde est très hétérogène ; elle varie avec les régions, la période d'étude, les services et les conditions de vie des populations concernées. De fortes prévalences ont été notées dans les pays asiatiques. A Shanghai, 64% de *S.aureus* étaient des SARM [58].

En Amérique du nord, on a rapporté des prévalences allant de 36 à 62.6% [35].

- En Europe :

En Europe, la situation s'aggrave sur un axe nord-sud. La prévalence de SARM au sein des infections à Staphylocoque varie de moins de 5 % aux « Pays-Bas, en Suède ou au Danemark » à des taux de plus de 50 % en « Grèce, en Italie et en Espagne ». Notons que les pays scandinaves ont mis en place une politique agressive de prévention dès les années 1970–1980 [20].

Le rapport d'European Antimicrobial Resistance Surveillance (EARS) en 2007 montre une décroissance significative pour des pays ayant des proportions de SARM très différentes, Estonie (0–5 %), Autriche (5–10 %), Royaume-Uni, France, Irlande (10–25 %), la Grèce et Chypre (25–50 %). Une augmentation significative est mise en évidence en Italie, en Allemagne, en Hongrie et en Slovaquie [20].

Le succès des politiques de prévention dans de nombreux pays européens explique ces progrès. Entre 2002 et 2010, le taux de SARM a décliné de 21,5 à 17,4% en 2010. En France, le taux de SARM a diminué de 29% en 2003 à 22% en 2010 [85].

- En Afrique :

La prévalence de SARM varie selon les régions de 10 à 57% soit, en général, une forte prévalence en Afrique noire et une fréquence plus faible dans les pays du Maghreb[50].

Au Maroc, une étude réalisée au centre hospitalier universitaire international « Cheikh Zaid » de Rabat a montré que le *S.aureus* représentait 10% du total des germes isolés au niveau des services de réanimation avec 37.5% de SARM [33].

- En Algérie :

Selon le 16^{ème} rapport d'évaluation du réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux ATB (2015), l'analyse globale de données aboutit à un pourcentage de SARM de 31.67% des isolats (tous secteurs confondus). Les souches de SARM isolées en réanimation ont enregistré les taux de résistance les plus élevés 38.65% [1].

Comparée aux autres pays du Maghreb, l'Algérie enregistre la plus forte prévalence de SARM par rapport aux deux pays voisins que sont la Tunisie (18 %) et le Maroc (19 %) [155].

II.3.2. Entérobactéries sécrétrices de -lactamases à spectre élargi :

- Dans le monde :

En 15 ans, la diffusion mondiale des BLSE de type CTX-M chez les entérobactéries a explosé de façon extrêmement rapide, d'où le terme de «pandémie CTX-M» [26]. Les études épidémiologiques rapportent que la situation est endémique dans la plupart des pays d'Europe, d'Asie et d'Amérique du Sud avec de forts taux de prévalence de CTX-M parmi les souches productrices de BLSE : *E.coli* (de 30 à 90%) et de *K.pneumoniae* (de 10 à 60 %) [98]. A noter que quelques CTX-M sont retrouvées spécifiquement dans certains pays.

Aux États-Unis, 5% des entérobactéries sont productrices de BLSE [107]. La prévalence des entérobactéries sécrétrices de BLSE au Canada est en augmentation avec une prévalence de BLSE plus importante pour l'espèce *E.coli* que pour *K.pneumoniae* [154]. En effet, d'après les résultats du programme de surveillance CANWARD, ce taux est passé de 1,6 à 3,2 % pour *K.pneumoniae* et de 3,4 à 4,9 % pour *E.coli* entre 2007 et 2008 [8].

- En Europe :

La prévalence des entérobactéries BLSE en Europe a été estimée à 3,9 % en 2007 selon le programme de surveillance Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) [141].

La surveillance des EBLSE en Europe est basée essentiellement sur *K.pneumoniae*. Le pourcentage de souches résistantes aux C3G et sécrétrices de BLSE est de 85 % selon le rapport européen sur la résistance microbienne aux ATB.

En Grèce, le pourcentage de souches présentant une résistance simultanée aux C3G, fluoroquinolones et aminosides dépasse les 50%. En France, ce dernier varie de 10 à 25% [45].

- En Afrique :

La prévalence des BLSE, en Egypte, semble être la plus élevée parmi les pays de l'Afrique du Nord. En effet, d'après les résultats d'étude du projet Antibiotic Resistance Surveillance and Control in the Mediterranean Region (ARMed), la prévalence de la résistance au C3G (qui est souvent synonyme de production de BLSE) chez les souches d'*E.coli* en 2005 est de 70 % en Egypte contre 33 % au Maroc, 17 % en Algérie, 11 % en Tunisie [21]. La prévalence des entérobactéries productrices de BLSE en Afrique subsaharienne varie de 0,7 à 50 % suivant la population étudiée et le pays concerné [22-70].

- En Algérie :

Les EBLSE représentaient 29.74% des isolats d'entérobactéries en milieu hospitalier en 2015, les données retenues étant celles de 14 laboratoires. Une augmentation du taux est notée par rapport aux précédentes années (16.8% selon le 9^{ème} rapport).

Tableau 8 : Fréquences d'isolement des EBLSE par espèce bactérienne.(AARN 2015)

| Espèce bactérienne | % de souches EBLSE En 2015(16 ^{ème} rapport) | % de souches EBLSE En 2008 (9 ^{ème} rapport) |
|----------------------------|--|--|
| <i>K.pneumoniae</i> | 51.24 | 40.2 |
| <i>Enterobacter spp</i> | 37.4 | 32.7 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 25 | 32.1 |
| <i>E.coli</i> | 21.77 | 8.8 |
| <i>Proteus spp</i> | 9.93 | 11 |
| <i>Salmonella spp</i> | 3.22 | 5.2 |

Selon l'AARN 2015 : le taux des EBLSE dans le service de réanimation est de 44% (*E.coli* 32%,*K.pneumoniae* 63.8%, *Enterobacter spp* 43.4%, *Proteus spp*20%)[1].

II.3.3. *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistant :

- **Dans le monde :**

L'incidence des PAMR dans les services de réanimation est en hausse constante au cours des deux dernières décennies. Dans une étude multicentrique nord-américaine, elle a augmenté de 4 % en 1993 à 14 % en 2002 [111].

- **En Europe :**

La résistance aux ATB chez *P.aeruginosa* est intégrée au protocole de surveillance du réseau européen EARS depuis 2005.

En 2009, la France a connu une forte augmentation de la proportion de résistance à la céftazidime chez *P.aeruginosa*.

En 2011, elle reste parmi les 10 pays d'Europe rapportant une proportion de résistance située entre 10 et 25%. Quatre pays rapportent une proportion supérieure à 25%. Au total, seuls 15 pays affichent en 2011 une proportion de résistance à la céftazidime chez *P.aeruginosa* inférieure à 10%. Une augmentation significative de la résistance à la céftazidime sur la période 2008-2011 est retrouvée dans deux pays, dont la France.

Une diminution significative est retrouvée pour Malte et la République Tchèque qui avaient en 2008 des proportions entre 30 et 50% [189].

- **En Afrique :**

En Egypte, 41 à 70% de souches de *P.aeruginosa* étaient résistantes à la ceftazidime et aztréonam, 12,06% étaient résistant à la ciprofloxacine et 13 à 19% étaient résistants aux carbapénèmes [18].

- **En Algérie :**

L'Algérie a connu une augmentation des taux de PAMR dans la dernière décennie allant de 11.3 à 14.82% pour *P.aeruginosa* CAZ-R, de 13.9 à 15.27% pour *P.aeruginosa* IMP-R et de 12.8 à 23.48% pour *P.aeruginosa* CIP-R entre 2007 et 2015 selon le 9^{ème} et le 16^{ème} rapport d'évaluation.

La résistance globale chez les patients hospitalisés (tous secteurs confondus) en 2015 pour : *P.aeruginosa* CAZ-R est de l'ordre de 13 %, *P.aeruginosa* IMP-R est de l'ordre de 13.97% et *P.aeruginosa* CIP-R 10.16%.

L'unité de réanimation présente le taux le plus élevé avec un taux de résistance à l'imipénème de 74.91% selon l'AARN en 2015 [1].

II.3.4. *Acinetobacter baumannii* multirésistant :

- **Dans le monde :**

L'émergence de cas groupés d'infections nosocomiales liées à cette espèce bactérienne lui a valu le surnom récent de «SARM des Gram négatifs » [190].

Selon le programme de surveillance des antimicrobiens SENTRY antimicrobial surveillance programme, la résistance d'*A.baumannii* a été signalée à des taux de 14%, 68%, 65% et 48% respectivement à l'imipénème, de la ceftazidime, de la ciprofloxacine et de l'association ampicilline et sulbactam [60]. Bien que certaines études décrivent une résistance croissante aux carbapénèmes et autres antibiotiques, atteignant des taux allant jusqu'à 90% [137].

Selon les données du Système coréen de surveillance des infections nosocomiales, en 2010, l'incidence déclarée d'infections à *A.baumannii* résistant au carbapénème était de 82,5% [86].

- **En Europe :**

La Roumanie, la Bulgarie, l'Italie et la Grèce enregistrent les taux de résistance les plus élevés avec plus de 50% de souches d'*A.baumannii* résistantes au carbapénèmes [189].

En France, l'analyse rétrospective des signalements reçus à l'institut de veille sanitaire InVS entre 2001 et 2011 montre une nette augmentation du nombre annuel de signalements pour *A.baumannii* résistant à l'imipénème (ABRI)

Les signalements pour ABRI représentaient entre 2 et 3% de l'ensemble des signalements reçus de 2003 à 2008, 3.2% en 2009, 5.1% en 2010 et 11.1% en 2011 [143].

- **En Afrique :**

Au Maroc, les taux de résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter* étaient de 50,3 à 68,7% pour la ceftazidime, de 23,8 à 42,6% pour l'imipénème, de 17 à 77,5% pour les aminoglycosides, de 65 à 68% pour la ciprofloxacine [88].

- **En Algérie :**

Selon le 16^{ème} rapport, le taux de la résistance aux ATB des patients hospitalisés (tous secteurs confondus) est comme suit : 90.06% à ceftazidime, 80.5% à l'imipénème et 85.41% à ciprofloxacine.

En réanimation, le taux de résistance à l'imipénème est de 82.79% [1].

CHAPITRE III :
PRINCIPALES
INFECTIONS A
BMR EN
REANIMATION

CHAPITRE III : PRINCIPALES INFECTIONS A BMR EN REANIMATION

Les infections nosocomiales (IN) en Algérie surviennent chez 12 à 13 % des patients hospitalisés toutes spécialités confondues [9]. Comparativement aux autres services de soins, les patients de réanimation semblent plus exposés au risque d'acquisition d'une IN, avec un taux de 30% [9], où 44.16% est due à des BMR [1].

III.1. Définition:

L'IN en réanimation se définit comme une infection contractée dans le service de réanimation, alors qu'elle n'était ni présente, ni en incubation, à l'admission. Un délai d'au moins 48 heures entre l'admission et l'état infectieux est retenu. [9-191]

Cas particulier : Infections du site opératoire ISO (définie ci-dessous).

III.2. Facteurs de risque d'acquisition :

- **Facteurs liés aux patients :**

- Gravité des pathologies (réanimation).
- Nombre élevé de patients immunodéprimés plus sensibles à l'infection.
- Nombre élevé de personnes âgées.
-

- **Facteurs liés aux soins :**

- Technicité développée, procédures invasives diagnostiques ou thérapeutiques et leur durée : mise en place de prothèses respiratoires, ventilation mécanique, de cathéters vasculaires et de sondes urinaires.
- Prescription importante d'antibiotiques : « pression de sélection ».
- Manque de personnels soignants qualifiés.
- Défaut d'application des règles d'hygiène et d'asepsie.
- Durée de séjour.

- **Facteurs liés à l'environnement :**

- Présence dans la même unité de porteurs de BMR.
- Eau, air et matériels contaminés [191].

III.3. Modes de transmission :

- **Voie endogène**

Le malade s'infecte avec ses propres germes à la faveur d'un acte invasif (porte d'entrée) et/ou en raison d'une fragilité particulière.

- **Voie exogène**

Il peut alors s'agir :

- d'infections croisées, transmises d'un malade à l'autre par les mains ou les instruments de travail du personnel soignant ;
- d'infections provoquées par les germes du personnel soignant et/ou de patients hospitalisés porteurs de BMR ;
- d'infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier : eau, air, matériel [191].

III.4. Différentes IN dans les services de réanimation :

Les principales infections nosocomiales en réanimation et leurs facteurs de risque sont :

III.4.1. Infections des voies respiratoires et pneumopathies :

Les pneumopathies à BMR sont fréquentes et aggravent le pronostic des malades admis en réanimation.

La fréquence des infections respiratoires nosocomiales est environ de 10 à 15%. Dans les services de réanimation, elles sont très fréquentes, représentant en moyenne 30% des infections ce qui l'en fait la première infection dans ce service.

La source principale d'infection est la flore oropharyngée et les bactéries d'origine digestive qui colonisent les voies respiratoires par voie ascendante et rétrograde. Les facteurs posturaux tel que le décubitus qui favorise les micro-inhalations par reflux, l'existence d'une sonde gastrique et les anti-acides qui altèrent la barrière gastrique, favorisent cette colonisation.

La ventilation artificielle représente le facteur de risque principal de l'infection. La sonde d'intubation et la canule de trachéotomie sont des corps étrangers qui entraînent nécessairement un processus inflammatoire de la muqueuse laryngée et/ou trachéale à leur contact.

Par ailleurs, les moyens de défense locaux du patient placé sous ventilation mécanique sont notablement moins efficaces.

L'intubation multiplie le risque de pneumopathie nosocomiale par plus de 20.

Les aspirations trachéales par la sonde d'intubation ou la trachéotomie peuvent également être source d'infections, notamment quand elles ne sont pas réalisées dans les règles d'hygiène et d'asepsie [191].

Les principaux germes responsables sont :

- les BGN (60%) : *P.aeruginosa*, *A.baumannii*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Enterobacter spp* et *Proteus spp*.
- Les CGP (30%) dont le *S.aureus* principalement [192].

III.4.2. Infections urinaires IU :

L'IU représente 40% des infections nosocomiales et présente 25% des infections en réanimation.

La fréquence des formes asymptomatiques, en particulier chez les patients sondés, la fait souvent méconnaître si un dépistage à la bandelette et éventuellement un examen cytot bactériologique des urines (ECBU) ne sont pas pratiqués systématiquement [191].

En plus des facteurs de risque habituels de l'IU communautaire, le principal facteur de risque de l'IU nosocomiale est l'existence d'une sonde urétrale. Le risque est multiplié par plus de 10 en cas de sondage à demeure et augmente avec la durée du sondage [191].

E.coli est le micro-organisme le plus souvent isolé (20%) suivi des entérocoques, *P.aeruginosa*, *A.baumannii* et les autres Enterobactéries [146].

III.4.3. Infections du site opératoire ISO :

Elles sont définies comme des infections survenant dans les 30 jours après l'intervention ou dans l'année qui suit l'intervention s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant.

L'ISO survient chez 3 à 7% des opérés. Les infections sont superficielles dans 50 à 60% des cas mais dans environ 20 à 30% des cas, elles sont profondes et nécessitent une reprise chirurgicale [191].

Les bactéries responsables des ISO sont : *S.aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp* et *K.pneumoniae*..[192].

III.4.4. Infections sur cathéter (KT) vasculaire :

Elles représentent environ 4% des infections nosocomiales. En réanimation, les patients ont un ou plusieurs dispositifs intravasculaires : voie veineuse périphérique, voie veineuse centrale, KT artériel [191].

Ces dispositifs représentent des portes d'entrée aux infections du fait de la rupture de la barrière naturelle cutanée. Par conséquent, les bactéries commensales de la peau sont la première cause de ces infections dont le *S.aureus* principalement [192].

Le risque infectieux augmente avec la durée du maintien du KT et la fréquence des manipulations sur la ligne de perfusion [191].

III.4.5. Bactériémies /Septicémies :

Elles représentent environ 6% des infections nosocomiales et 5 à 10% de l'ensemble des infections en réanimation.

Les bactériémies sont la première cause de mortalité attribuable à l'infection nosocomiale, bien que la létalité par bactériémie soit diminuée au cours des dernières années.

Les dispositifs intravasculaires sont la source principale, représentant environ un tiers des bactériémies nosocomiales. Un foyer infectieux à distance peut également être associé à une bactériémie nosocomiale, en particulier un foyer urinaire, pulmonaire ou digestif [191].

S.aureus est la principale bactérie incriminée dans les bactériémies, suivi d'*E.coli*, *P.aeruginosa* et les autres Enterobactéries [192].

**« A rappeler que les BMR ne sont pas plus virulentes
que les souches bactériennes sensibles de la même
espèce »**

CHAPITRE IV :
DETECTION
DES
BACTERIES
MULTI-
RESISTANTES
AU
LABORATOIRE

CHAPITRE IV : DETECTION DES BACTERIES MULTI-RESISTANTES AU LABORATOIRE

Le laboratoire de microbiologie est impliqué dans la recherche des agents étiologiques des infections et l'établissement d'antibiogrammes pour favoriser la désescalade du traitement antimicrobien et réduire son spectre en fonction des résistances observées.

Les outils de détection, utilisés au niveau des différents laboratoires de microbiologie, sont divers ; des méthodes de détection phénotypiques (manuelles ou automatisées) ainsi que des méthodes de détection génotypiques sont mises en pratique [120].

IV.1. Méthodes de la détection phénotypique :

Les tests de sensibilité conventionnels aux antibiotiques, dits tests phénotypiques, mesurent le phénotype de la résistance. Cette détection fait appel à des méthodes manuelles et à des automates.

IV.1.1. Méthodes manuelles :

- Détection des SARM : la recherche de la résistance des SARM fait appel à des techniques complémentaires spécifiques, qui sont : le test à la céfoxitine (30µg), Screening test à l'oxacilline SARM, recherche de la PLP2a par agglutination [31-53].
- Détection des EBLSE : les méthodes manuelles du diagnostic phénotypiques reposent sur le test de double diffusion sur gélose ou test de synergie entre un inhibiteur de - lactamases (IBL / acide clavulanique) et une C3G et les bandelettes E-test [117-132].
- Détection des PAMR et des ABMR : la détection comprend la recherche des BLSE, et les tests de mise en relief de Carbapenemase. Elle se base également sur le résultat sous une forme quantitative par la concentration minimale inhibitrice (CMI) correspondant à la plus faible concentration antibiotique qui inhibe la croissance bactérienne in vitro [31-117].

IV.1.2. Méthodes automatisés :

Les automates permettent l'association de l'identification du germe ainsi et que l'étude de sa sensibilité aux antibiotiques.

- **Phoenix** : Le Phoenix a été développé dans le souci de répondre à tous les besoins des laboratoires. D'utilisation simple, il apporte au laboratoire performance, sécurité, productivité et flexibilité [193].

Sa galerie unique permet de réaliser l'identification et l'antibiogramme facilement, sans tests supplémentaires. Elle est formée d'un côté ID, contenant des substrats déshydratés pour l'identification des bactéries, et d'un côté AST contenant des concentrations variées d'antibiotiques [43].



Figure 6 : Le Phoenix

Le système Phoenix est capable de détecter avec précision et rapidement les isolats produisant des BLSE d'*E.coli*, *K pneumoniae* et *K.oxytoca*.

L'appareil permet d'effectuer au maximum 100 tests d'identification [43].

- **Le VITEK 2** : Le VITEK automatise toutes les étapes nécessaires à la réalisation des tests d'identification et d'antibiogrammes avec les cartes VITEK. Il est composé d'un préparateur, d'un incubateur/lecteur, d'un ordinateur et d'une imprimante [194].



Figure 7 : Le Vitek 2

Le test VITEK 2 de BLSE est un nouvel outil pour la détection rapide de la production de BLSE basée sur l'évaluation simultanée des effets inhibiteurs de la céfépime, céfotaxime, ceftazidime seul et en présence de l'acide clavulanique [138].

Les deux systèmes sont très sensibles pour la détection des BLSE. Les souches productrices de BLSE exposées au Phoenix montraient une plus grande sensibilité par rapport au Vitek 2. Le système Phoenix donne des résultats rapides.

Par contre, il a une spécificité plus faible (81%) que celle du Vitek 2 (85%), reflétant à la fois le défi de la nature des souches et aussi le grand impact mathématique d'un résultat incorrect lorsque seulement 26 souches BLSE négative ont été testées [83].

IV.2. Méthodes de la détection génotypique :

Les méthodes de biologie moléculaire sont encore marginales en bactériologie. Elles restent principalement du domaine de la recherche. Elles permettent l'identification bactérienne par différentes méthodes, essentiellement : PCR (Polymerase Chain Reaction), PCR temps réel ou PCR multiplex couplée à l'hybridation, ou autres méthodes, qui sont en général les tests les plus rapides et sont adaptés soit à la caractérisation des gènes sur colonies, soit directement à partir de certains prélèvements comme les urines ou les hémocultures [4].

Ces tests permettent aussi la détection de gènes de résistance aux antibiotiques et le typage de souches.

Ces tests sont basés sur l'amplification enzymatique ciblée d'un segment d'ADN portant sur une partie ou la totalité du gène de résistance [15].

Le cycle d'amplification comporte 3 étapes :

- 1- La dénaturation de l'ADN double brin par la chaleur 94°C.
- 2- L'hybridation amorce-ADN à 55°C.
- 3- L'élongation à 72°C [62].

IV.2.1. Détection des SARM par biologie moléculaire :

De nombreux systèmes ont été proposés. Il est possible de détecter les souches résistantes à la méticilline de *S.aureus* avec La PCR-Multiplex (classique ou Real-time) : un couple d'amorces spécifiques d'espèce *S. aureus* (*nuc*) et une sonde spécifique du gène *mecA* sont utilisés [94].

IV.2.2. Détection des EBLSE par biologie moléculaire :

Lors de la détection génotypique, on utilise des techniques de détection de gènes plasmidiques spécifiques (CTX-M, TEM et SHV) par PCR conventionnelle, en temps réel ou multiplex..... [148].

La PCR Multiplex BLSE contient des amorces oligo-nucléotidiques marquées qui permet simultanément, l'amplification spécifique de différentes régions d'ADN lors d'une seule réaction de PCR.

La Multiplex BLSE détecte toutes les entérobactéries possédant un ou plusieurs gènes (blaTEM, blaSHV, blaCTX-M, blaOXA) importants responsables de la synthèse de BLSE, [83] ces gènes sont amplifiés en utilisant des amorces spécifiques (OT2R, SHV-R, CTX-MC et OXA-R) à partir de l'ADN total ou de l'ADN plasmidique et suivant plusieurs protocoles [62].

IV.2.3. Détection de la résistance chez *P.aeruginosa* par biologie moléculaire :

La résistance d'isolats de *P.aeruginosa* aux fluoroquinolones est reliée à des mutations ponctuelles dans les gènes *gyrA* (codant l'ADN gyrase) et *parC* (codant la topo-isomérase IV) et dans les gènes régulant l'efflux, *mexR*, *mexZ* et *mexOZ*, pour la résistance aux fluoroquinolones et les aminosides. Le pyroséquençage est une technique qui peut être utilisée pour la recherche des mutations ponctuelles [130].

IV.2.4. Détection de la résistance chez *A.baumannii* par biologie moléculaire :

Des oxacillinases hydrolysant les carbapénèmes sont de plus en plus présentes chez *Acinetobacter baumannii*.

La détection du gène blaOXA58 était menée par PCR suivie par une analyse des séquences. Les plasmides étaient extraits et hybridés avec une sonde spécifique de blaOXA58. Les empreintes d'ADN chromosomique des souches isolées étaient obtenues par électrophorèse en champ pulsé [195].

Les méthodes moléculaires, bien qu'il s'agisse des bon tests de confirmation avec une sensibilité et une spécificité élevées, mais coûtent cher et n'sont pas disponibles dans la plupart des laboratoires de routine [41].

CHAPITRE V : TRAITEMENT ET PREVENTION

CHAPITRE V : TRAITEMENT ET PREVENTION

V.1. Traitement des infections à BMR :

L'antibiothérapie utilisée pour le traitement d'une BMR doit reposer sur les données de l'antibiogramme.

V.1.1. Traitement des infections à SARM :

Dans le traitement des infections à SARM, le traitement de choix reste un glycopeptide (vancomycine ou teicoplanine).

D'autres molécules telles que : acide fusidique, fosfomycine, rifampicine ont une activité antistaphylococcique et peuvent être utilisées en association avec un glycopeptide. En aucun cas ces molécules ne doivent être utilisées seules [30-34].

V.1.2. Traitement des infections à EBLSE :

En présence d'une EBLSE, le carbapénème demeure l'agent le plus utilisé. L'augmentation de la consommation de carbapénèmes, favorisant ainsi la dissémination des EPC. La recherche d'alternatives aux carbapénèmes pour le traitement des infections à des EBLSE est donc cruciale pour préserver l'efficacité de ces β -lactamines de dernier recours.

La grande majorité des BLSE acquises par les Enterobactéries (TEM, SHV et CTX-M) est sensible in vitro aux inhibiteurs de β -lactamases. L'utilisation prudente des associations β -lactamine / inhibiteur de β -lactamases (BL/IBL) a été récemment validée par l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing pour les souches avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) ≤ 8 mg/L.

Aux Etats-Unis, le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) définit la sensibilité aux BL-BLI par des valeurs de CMI ≤ 16 mg/L pour les associations pipéracilline-tazobactam et ticarcilline-clavulanate, et ≤ 8 mg/L pour l'association amoxicilline-clavulanate [72].

V.1.3. Traitement des infections à PAMR :

La colistine représente actuellement la principale option pour le traitement des infections à PAMR. L'efficacité des polymyxines en monothérapie au cours des infections à PAMR semble acceptable [54].

Plusieurs associations d'antibiotiques inactifs lorsqu'ils sont utilisés seuls ont montré un effet synergique in vitro sur des souches cliniques de PAMR, notamment : « ticarcilline /tobramycine / rifampicine» et « macrolides (clarithromycine ou azithromycine)/tobramycine ». La rifampicine semble également potentialiser l'action de certaines molécules anti-Pseudomonas. Ces combinaisons synergiques, dont les mécanismes sont mal élucidés, n'ont pas démontré leur efficacité in vivo et ne peuvent donc pas être recommandées actuellement [122].

V.1.4. Traitement des infections à ABMR :

Pour les souches multi-résistantes, le sulbactam, le tazobactam et l'acide clavulanique se concentrent particulièrement bien dans les urines. Ces molécules associées (ticarcilline/acide clavulanique, pipéracilline/tazobactam), ou seul (sulbactam), pourraient être utilisées dans le traitement des infections urinaires à ABMR.

L'association ampicilline/sulbactam, où seul le sulbactam est actif, a été utilisée avec succès dans le traitement des méningites à *Acinetobacter baumannii*.

Sur les souches multirésistantes sans possibilité de choix d'une molécule active sur l'antibiogramme (*A.baumannii* toto-résistant), les associations ticarcilline/acide clavulanique/sulbactam, plus ou moins rifampicine, se révèlent parfois une possibilité thérapeutique. Ces associations ont été testées avec succès dans un modèle de pneumopathie murine à *Acinetobacter*.

La rifampicine en association avec la polymyxine B (colistine) a été également utilisée dans ce type d'infection [79].

V.2. Maitrise de la diffusion des bactéries multi-résistantes en réanimation :

La lutte contre les BMR dans un établissement de soins passe par la mise en place d'un programme de maitrise des BMR puis l'évaluation de l'impact de ce programme sur la prévalence des BMR [124].

V.2.1. Critères de choix du programme de maitrise des BMR dans un service ou un établissement de soins (ES) :

Les BMR peuvent être distinguées en deux catégories :

- Celles qui disséminent par transmission croisée ou (épidémique) : elles passent de patient à patient par les mains du personnel soignant, le matériel ou par contact direct : il s'agit des SARM, des EBLSE et des *A.baumannii*.
- Celles qui émergent dans la flore du patient suite à une mutation sous l'effet d'une forte pression de sélection due à la prise d'ATB : c'est le cas de *P.aeruginosa* ou des entérobactéries résistantes aux C3G.

En pratique les deux catégories des BMR sont impliquées dans les infections nosocomiales ; la maitrise de ces germes résistants s'appuie sur des méthodes différentes selon leurs types :

- Pour éradiquer les BMR à transmission croisée, il faut renforcer les mesures d'hygiène dans les services d'hospitalisation.
- Par contre, pour éradiquer les BMR à pression de sélection, c'est l'utilisation rationnelle des ATB qu'il faudrait privilégier car le renforcement seul des précautions d'hygiène ne suffit pas[124].

V.2.2. Programme de maîtrise des BMR :

V.2.2.1. Programme de maîtrise des BMR à transmission croisée :

V.2.2.1.1. Identification précoce des patients infectés ou colonisés :

-Dépistage : Les stratégies de dépistage doivent cibler les bactéries commensales (EBLSE, SARM) plutôt que les bactéries saprophytes, même si *P.aeruginosa* et plus encore *A.baumannii* représentent un risque particulier en réanimation [17].

Dès l'admission en réanimation, un écouvillonnage du nez, éventuellement du périnée, est préconisé pour le SARM, un écouvillonnage rectal pour les EBLSE. L'intérêt du dépistage est d'identifier les patients porteurs, afin de mettre en œuvre les mesures d'isolement spécifiques, de sensibiliser l'équipe soignante et d'orienter le choix de l'antibiothérapie en cas de présomption d'infection [61].

-Détection au laboratoire : Le laboratoire de microbiologie détecte la multi-résistance grâce à des techniques microbiologiques appropriées et effectue la notification du cas porteur de BMR (contact biologiste-équipe soignante, signalisation sur la feuille de résultat).

Un large choix d'outils est offert afin d'identifier une BMR, parmi lesquels des tests de sensibilité aux ATB (antibiogramme), des tests complémentaires, des tests de diagnostic immunologiques, des outils de biologie moléculaire avec la PCR en temps réel [46].

-Signalisation : Le laboratoire de microbiologie est le premier à signaler, donc à donner l'alarme en cas de BMR [124].

V.2.2.1.2. Mise en place des précautions standard et complémentaires :

- **Précautions « standard » :**

Les Précautions « standard » doivent être respectées pour tout patient, tout soin, par tout soignant.

1) Hygiène des mains systématique : technique de FHA (Friction Hydro-Alcoolique) après le retrait des gants, entre 2 patients, entre 2 activités.

2) Port de gants : si risque de contact avec du sang ou tout autre produit d'origine humaine, et pour tout soin. Les gants doivent être changés entre deux patients, deux activités (1 gant = 1 soin = 1 patient).

3) Port de surblouses, lunettes, masques : si les soins ou manipulations exposent à un risque de projection ou d'aérosolisation de sang ou tout autre produit d'origine humaine (ex : aspiration, kinésithérapie, manipulation de matériel et linge souillés ...).

4) La gestion du matériel souillé : le matériel piquant / tranchant à usage unique est déposé immédiatement après usage dans un container adapté. Le matériel réutilisable souillé est manipulé avec précaution et subit un procédé d'entretien (stérilisation ou désinfection) approprié.

5) La gestion des surfaces souillées : les nettoyer et les désinfecter avec un désinfectant approprié.

6) Transport de prélèvements biologiques, de linge, de matériel souillé : ils doivent être transportés dans un emballage étanche et fermé.

7) Si contact avec du sang ou liquide biologique :

- après piqûre ou blessure : lavage et antiseptie au niveau de la plaie.
- après projection sur les muqueuses (conjonctive, bouche...) : rinçage abondant à l'eau [100].

• **Les précautions complémentaires :**

Les précautions complémentaires d'hygiène viennent toujours en complément des précautions "standard" en fonction du mode de transmission de l'infection.

Tableau 9 : Les précautions complémentaires [100].

| Modes de transmission Précautions complémentaires | Transmission par contact interhumain Précautions «contact » | Transmission par les sécrétions oro-trachéobronchiques Précautions «gouttelettes» | Transmission aérienne Précautions « air » |
|--|--|--|--|
| Hygiène des mains | FHA | FHA | FHA |
| Chambre individuelle | recommandée (ou regroupement) | recommandée (ou regroupement) | Chambre individuelle obligatoire |
| Masque Lunettes | Précautions Standard | Masque type chirurgical dans l'environnement immédiat du patient (<1,5m) | Masque obligatoire Type FFP1 |
| Gants | Si contact avec patient ou environnement | Précautions Standard | Précautions Standard |
| Surblouse | Si contact avec patient ou environnement | Précautions Standard | Précautions Standard |
| Matériel et linge | Précautions Standard | Précautions Standard | Précautions Standard |
| Transport du patient | A limiter | A limiter | A limiter |

FHA : Friction Hydro-Alcoolique.

V.2.2.2. Programme de maîtrise des BMR « à pression de sélection » :

Pour lutter contre les BMR « à pression de sélection », il faut mettre en place une stratégie de maîtrise axée sur l'aspect « d'antibiothérapie », sous la responsabilité de la commission des ATB. Son objectif principal sera la réduction de la consommation des ATB.

Les mesures consistent en :

- L'amélioration des prescriptions par l'élaboration de protocoles locaux d'antibiothérapie et d'antibioprophylaxie chirurgicale (fiches, réunions périodiques...)
- Le control des prescriptions des molécules récentes ou à large spectre (exiger une validation par le microbiologiste)
- Effectuer des audits de pratique c'est-à-dire des enquêtes visant à analyser les pratiques et évaluer la conformité avec les protocoles.

La surveillance de la consommation des ATB par le suivi des ATB dispensés en pharmacie et exprimés en DDJ (dose définie journalière) rapportée à 1000 jours d'hospitalisation [124].



**LA PARTIE
PRATIQUE**

CHAPITRE

VI :

MATERIELS

ET

METHODES

Protocole, durée et objectifs de l'étude :

Le présent travail a été effectué au niveau du laboratoire central, unité de microbiologie du CHU de Blida. Son objectif est d'évaluer le taux et l'implication en pathologie des différentes BMR.

Il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur une période de 02 ans (du 1^{er} Janvier 2015 au 31 Décembre 2016), la date de début de l'étude correspond à la date de l'inauguration de l'unité de réanimation du service des urgences médico-chirurgicales, et portant sur les BMR isolées à partir des prélèvements issus de malades hospitalisés dans cette nouvelle unité.

Les résultats étaient exploités à partir des registres et grâce au logiciel WHONET 5.6, ceci est un logiciel utilisé pour la surveillance de la résistance bactérienne aux ATB.

CHAPITRE VI : MATERIELS ET METHODES

VI.1. Matériels :

VI.1.1. Matériels non biologique :

Le matériel non biologique est représenté par : les différents équipements, les fournitures, la verrerie, les milieux de culture et d'identification, les solutions de coloration et les réactifs d'identification.

Tableau 10 : Le matériel non biologique disponible au laboratoire de microbiologie.

| Equipements | Fournitures | Verrerie |
|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Paillasse - L'évier et eau courante - Eau physiologique - Bec bunsen - Microscope optique - Etuve à 35°C. - Séchoir - Réfrigérateur - Congélateur - Bain-marie - Densitomètre | <ul style="list-style-type: none"> - Blouse de laboratoire - Gants - Savon pour les mains - Liquide désinfectant - Ances, ciseaux et pinces - Collecteurs des objets - Portoirs pour tubes - Disques d'ATB - Bougie, bocal et jarre - Ecouvillons en coton stérile - Poires et embouts - Seringues stériles - Huile à immersion - Huile de vaseline stérile - Pied à Coulisse métallique | <ul style="list-style-type: none"> - Boite de Pétrie 90 mm de diamètre en plastiques. - Lame et lamelle - Pipettes Pasteur - Tubes à essai stériles - Tubes secs - Cellule de Nageotte et cellule de Malassez |
| Milieu de culture et d'identification | Solution de coloration | Réactifs d'identification |
| <ul style="list-style-type: none"> - Gélose nutritive - Gélose de BCP -Milieu Mac-conkey - Milieu Hektoen - Milieu de Mueller Hinton. - Milieu de conservation. - Bouillon cœur cerveau B.H.I.B. - Bouillon nutritif - Gélose Triple-Sugar-Iron (TSI). - Milieu citrate de Simmons. - Milieu Clark et Lubs. - Milieu Ferguson. - Milieu en ampoules (LDC, ODC, ADH, Témoin). - Galeries API. | <ul style="list-style-type: none"> - Violet de gentiane. - Lugol. - Bleu de méthylène. - Fuschine. - Alcool éthylique à 95°. | <ul style="list-style-type: none"> - Réactifs de VP (VP II et VP I). -Réactifs de Kovacs. - Réactifs pour TDA. - Réactif NR1 et NR2. - Disques d'ONPG -Disque d'oxydase - Eau oxygénée H₂O₂. |

VI.1.2. Matériel biologique :

VI.1.2.1. Les prélèvements :

Les échantillons reçus sont constitués : du sang (hémoculture), de LCR, des urines, des prélèvements distaux protégés (PDP) et de pus et sérosités ; provenant des malades hospitalisés en réanimation.

Chaque prélèvement reçu doit être réalisé dans des conditions très rigoureuses d'asepsie et il doit être accompagné d'une fiche de renseignement sur laquelle sont mentionnées des informations relatives à chaque malade (nom, prénom, âge, sexe, les signes cliniques et l'existence d'une éventuelle antibiothérapie en précisant la nature de l'ATB).

Les BMR qu'on a détectées ont été isolées à partir des prélèvements suivants :

- **Les hémocultures :**

L'hémoculture est un examen très performant, essentiel en pathologie infectieuse, sa réalisation doit être conduite avec une grande rigueur. Elle permet de porter un diagnostic étiologique formel, elle est positive au cours des septicémies et des bactériémies.

Le sang est prélevé, le plutôt possible, après les premières constatations cliniques avant toute antibiothérapie et au moment des frissons ou des élévations thermiques. Chez l'adulte, 10 ml sont prélevés et 1 à 2 ml chez l'enfant par ponction veineuse (en effet, les autres sites de prélèvement augmentent, de façon significative, la fréquence des contaminants). Chez le nouveau-né, la ponction de la fontanelle ou la ponction jugulaire sont parfois nécessaires [128-134].



Figure 8 : Un flacon d'hémoculture.
[Originale]

- **Le liquide Céphalo-rachidien "LCR" :**

Le liquide céphalo-rachidien est prélevé au niveau lombaire, entre les espaces vertébraux L4-L5 ou L5 et S1, à l'aide d'une aiguille à ponction lombaire (PL) et recueilli dans des tubes stériles accompagnés d'un maximum de renseignements cliniques. Le LCR est traité immédiatement en raison de la lyse rapide des polynucléaires [39-64].



Figure 9 : Un prélèvement de LCR
[Originale]

- **Les urines :**

Il s'agit d'un prélèvement aseptique d'urine qui peut être effectué au jet ou par sondage vésical. En réanimation, les patients sont sondés, le recueil des urines s'effectue par ponction sur le site spécifique du dispositif de sonde, après désinfection soignée et clampage de la tubulure. Il ne faut jamais prélever dans le sac collecteur (pullulation microbienne+++) ou déconnecter la sonde du sac collecteur.

Une culture d'urine devrait être accompagnée d'un sédiment urinaire (colonisation ou infection des voies urinaires). L'échantillon d'urine doit être gardé au réfrigérateur s'il n'est pas immédiatement transporté au laboratoire [196-197].



Figure 10 : Un échantillon d'urines.
[Originale]

- **Divers (pus et sérosités) :**

Le prélèvement de pus est effectué par écouvillonnage pour les infections superficielles et par ponction à l'aide d'une seringue pour les infections profondes, il doit porter exclusivement sur le pus et éviter toute contamination.

Ce produit pathologique étant souvent polymicrobien et est lui-même un excellent milieu de culture [57].



Figure 11 : Un prélèvement de pus.
[Originale]

- **Les prélèvements distaux protégés PDP :**

Réalisés chez les patients intubés ventilés ou trachéotomisés. Un double cathéter est introduit à l'aveugle, les sécrétions sont aspirées à la seringue. Le cathéter est coupé dans un tube stérile.

Au laboratoire, 1 ml de soluté isotonique est ajouté dans le tube contenant le prélèvement, vortexer pour homogénéiser les sécrétions [57-198].



Figure 12 : Un PDP.
[Originale]

Un milieu de transport est à prévoir si la mise en culture ne peut être effectuée dans un délai moins de 2 h.

VI.1.2.2. Souches de référence :

Une souche peut constituer une souche de référence en raison de ses caractères antigéniques, biochimiques ou de son pouvoir pathogène, bien connus. Ces derniers constituent un outil dans la démarche d'assurance qualité.

On a utilisé des souches bactériennes d'origine américaine : les ATCC (American Type Culture Collection).

Tableau 11 : Les souches de référence utilisées au laboratoire de microbiologie.

| Souches bactériennes | Souches bactériennes de référence |
|---|--|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 SARM (-) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 SARM (+) |
| Entérobactéries | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 |



Figure 13 : Les différentes souches ATCC utilisées au niveau de laboratoire de microbiologie. [Originale]

VI.2. Méthodes : Etude bactériologique

Le but de toute étude bactériologique d'un prélèvement pathologique est l'identification du ou des germes qui s'y trouvent et l'étude de la sensibilité aux ATB.

Tous les prélèvements biologiques suivent les étapes suivantes :

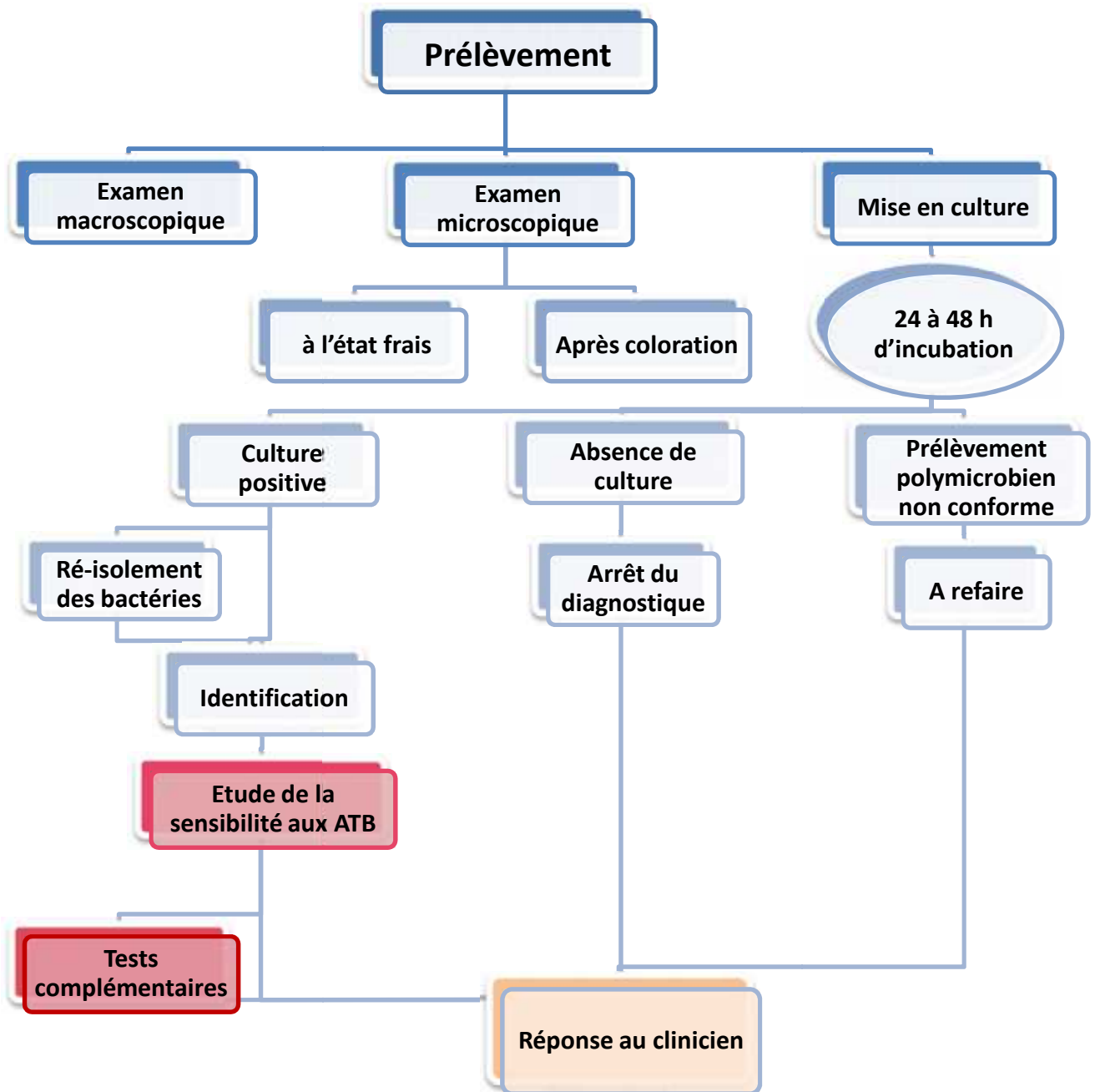


Figure 14 : Démarche de diagnostic bactériologique. [Originale]

Pour l'ensemble des prélèvements reçus au niveau du laboratoire (hémoculture, LCR, urines, pus et sérosités) ; la démarche cités ci-dessus a été suivi, mais tout en respectant la spécificité de chaque technique pour chaque type de prélèvement.

VI.2.1. Examen macroscopique :

Il s'agit de l'observation du prélèvement à l'œil nu, afin de déterminer certains paramètres : la couleur, l'aspect.

VI.2.2. Examen microscopique :

L'examen microscopique reste un acte fondamental de diagnostic bactériologique. Il comporte un examen à l'état frais et après coloration (coloration de bleu de méthylène ou coloration de Gram).

VI.2.3. Mise en culture (Isolement des bactéries) :

C'est l'étape la plus importante dans le diagnostic bactériologique. Il s'agit d'ensemencer les milieux de culture appropriés :

- Gélose nutritif (GN) pour les germes non exigeants.
- Milieu Chapman sélectif pour les staphylocoques
- Milieu Hecktoen sélectif pour les BGN non exigeants, comme on peut utiliser le BCP (Pourpre de bromocrésol)
- Gélose au sang cuit (GSC) et gélose au sang frais (GSF) pour les germes exigeants.

On incube les boîtesensemencées pendant 24 à 48 h à 37°C dans l'étuve ;

- En atmosphère normal pour la GN, le Chapman, l'Hecktoen et le BCP.
- En atmosphère enrichi avec 5% de CO₂ pour la GSF et la GSC.

Après la durée d'incubation, on observe les boîtesensemencées à la recherche d'une éventuelle culture. Devant toute culture positive, on doit déceler les bactéries potentiellement responsables de l'infection.

On différencie entre les types de colonies selon la taille, l'aspect et la couleur.

VI.2.4. Identification des bactéries :

Les bactéries sont identifiées en se basant sur les caractères morphologiques et biochimiques de chaque espèce bactérienne.

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

Tableau 12 : Identification des bactéries concernées (Original).

| Tests d'identification Bactérie à identifier | Coloration de Gram | Tests d'orientation | | Galeries biochimiques |
|--|---|---------------------|---------|---|
| | | Catalase | Oxydase | |
| <i>S. aureus</i> | CGP | + | / | Api Staph |
| Enterobactéries | BGN | / | - | Galerieclassique ou Api 20 E ou Api 10 S |
| <i>P.aeruginosa</i> | BGN | / | + | Api 20 NE |
| <i>A.baumannii</i> | Cocco-bacille à Gram négatif | / | + | Api 20 NE |

L'ensemble des techniques utilisées afin de réaliser les différents examens et tests cités ci-dessus sont détaillées au niveau de l'**annexe VIII**.

VI.2.5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

Chaque bactérie identifiée et incriminée a bénéficié d'une étude de la sensibilité aux antibiotiques selon les normes du CLSI et la standardisation en vigueur.

VI.2.5.1. Antibiogramme par diffusion des disques :

L'antibiogramme a pour but de mesurer la sensibilité d'une souche bactérienne à un ou plusieurs ATB en classant celle-ci en **Sensible**, **Intermédiaire** ou **Résistante** (S, I ou R).

C'est un test routinier mais néanmoins complexe pour assurer un résultat de qualité fiable. Il doit être réalisé afin de prédire le résultat des traitements antibiotiques. Son principe consiste en un test de toxicité qui doit être réalisé rapidement sur un panel d'antibiotiques.

L'antibiogramme permet aussi de donner l'alerte sur la présence d'une BMR. Des tests complémentaires doivent être réalisés pour la confirmation de la multi résistance (**Annexe VIII** : fiche technique)



Figure 15 : Antibiogramme par diffusion des disques [199].

VI.2.5.2. Les tests complémentaires :

Pour certains ATB ou familles d'ATB, l'antibiogramme standard n'est pas suffisant et des tests complémentaires doivent être pratiqués avant une interprétation définitive.

A- Recherche de la résistance de *Staphylococcus aureus* à la méticilline :

La détection adéquate des souches de SARM est très importante à des fins thérapeutiques et épidémiologiques.

Il existe un certain nombre de méthodes phénotypiques pour détecter la résistance à la méticilline, réalisées au laboratoire : screening test, les techniques de diffusion des disques de l'oxacilline et de céfoxitine et la recherche de la PLP2a par méthode d'agglutination sur latex.

- **Screening test :**

Principe :

La résistance de *S.aureus* à la méticilline (aux pénicillines M en général) est croisée avec toutes les β -lactamines. De ce fait, sa recherche est systématique pour chaque isolat clinique. Les éléments essentiels à considérer pour cette recherche sont :

- La concentration en NaCl du milieu influe sur l'expression de cette résistance ; certaines souches (Voir populations de souches) SARM expriment mieux ce phénotype en milieu hypersalé.
- L'oxacilline qui présente une meilleure stabilité que la méticilline, est indiquée pour la technique de recherche des SARM.
- La quantité de bactéries inoculées à la surface de la gélose : l'écouvillon ne doit pas être trop sec au moment de l'ensemencement [200].

Technique :

- Préparation du milieu : diluer 6 mg d'oxacilline (poudre injectable d'un flacon de 1g) dans 10 ml d'eau distillée stérile, puis faire une dilution au 1/10ème. Prendre 2 ml de cette solution dans une boîte de Pétri de 90mm de diamètre, ajouter 18ml de gélose Mueller Hinton additionnée de 4% de NaCl. Les boîtes sont coulées extemporanément et doivent être parfaitement sèches avant l'emploi, et convenablement numérotées.
- L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18 h de la souche de *S.aureus* à étudier, en réalisant une suspension de densité égale à 0,5 McFarland. Les souches de référence sont préparées et testées dans les mêmes conditions
S.aureus ATCC 25923 souche sensible à l'oxacilline.
S.aureus ATCC 43300 souche de résistance hétérogène à l'oxacilline
- Imbiber un écouvillon stérile avec la suspension bactérienne. L'ensemencement se fait par spot.
- Incubation : se fait à 35°C pendant 24 h [200].

Lecture et interprétation :

Valider la technique en vérifiant les souches de référence :

- *S.aureus* ATCC 25923 : absence de culture
- *S.aureus* ATCC 43300 : présence de culture

La présence d'une culture bactérienne pour la souche à tester, indique qu'elle est de phénotype SARM [200].

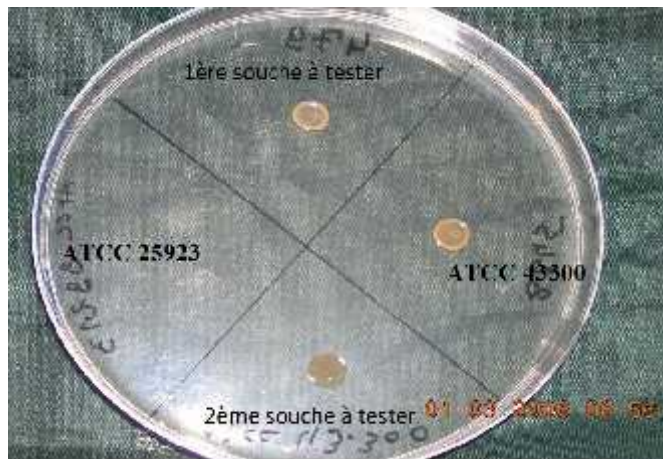


Figure 16 : Test à l'oxacilline (Screening test) [200].

- Les techniques de diffusion des disques de l'oxacilline et de céfoxitine :

Principe :

Pour *S.aureus*, le disque de céfoxitine est comparable à celui de l'oxacilline pour détecter la résistance à l'oxacilline par production de PLP2a (gène *mecA*) ; cependant, le disque de céfoxitine est plus facile à lire et donc c'est la méthode préférée [125].

Technique :

En pratique, pour une meilleure détection de la résistance, les disques d'oxacilline (1µg) et de céfoxitine (30µg) doivent être testés simultanément au niveau de l'antibiogramme standard de *S.aureus* [125].

Lecture et interprétation :

Tableau 13 : Recherche de la résistance à l'oxacilline et interprétation des tests (méthode de diffusion des disques) [125].

| Oxacilline (1µg) | Céfoxitine (30µg) | Interprétation |
|------------------|-------------------|----------------|
| 13mm | 22mm | Souche OXA S |
| 12mm | 21mm | Souche OXA R |



Figure 17 : Staphylococcus aureus résistant à l'oxacilline (SAMR) [201].

- **Test d'agglutination au latex pour la détection de la PLP2a :**

Le test d'agglutination au latex peut être effectué facilement dans les laboratoires de microbiologie de routine. C'est une méthode alternative pour la PCR pour la confirmation du SARM.

Tous les isolats qui présentaient une résistance à la céfoxitine ont été testés pour le produit mecA (PLP2a) pour confirmer le SARM.

Principe :

Les particules de latex sensibilisées avec des anticorps monoclonaux dirigés contre PLP2a réagissent spécifiquement avec le SARM pour provoquer une agglutination visible à l'œil nu. Les *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline (SASM) n'agglutinent pas les particules de latex.

Technique :

- Déposer 50 µl de surnageant d'échantillon dans deux cercles d'une carte d'agglutination.
- Ajouter dans un cercle une goutte (25µl) de latex sensibilisé et dans le deuxième cercle une goutte (25µl) de latex de contrôle.
- Mélanger à l'aide des bâtonnets fournis et étaler sur toute la surface des cercles noirs.
- Agiter la carte par une rotation manuelle ou à l'aide d'un plateau rotatif pendant 3 min.

Lecture et interprétation :

Observer la présence ou non d'agglutination :

- L'absence d'agglutination du latex de contrôle valide la technique.
- La présence d'agglutination du latex sensibilisé uniquement indique que la souche possède la protéine PLP2a.

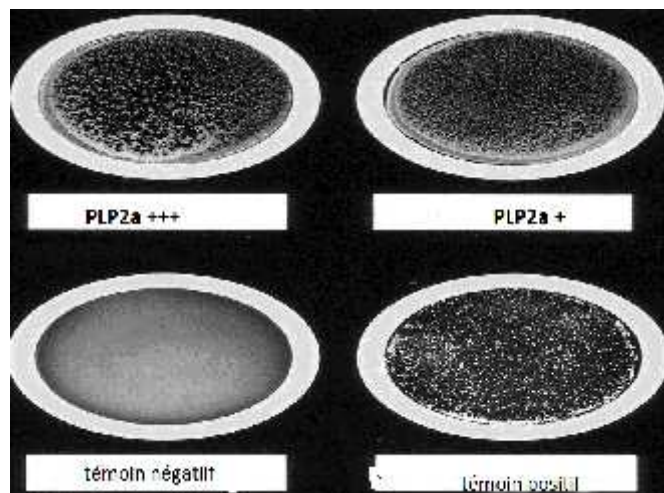


Figure 18 : Test d'agglutination au latex (la détection de la PLP2a) [202].

B- Recherche des BLSE chez les entérobactéries :

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes :

- Céfotaxime (CTX 27mm)
- Ceftazidime (CAZ 22mm)
- Ceftriaxone (CRO 25mm)
- Aztréonam (ATM 27mm)

• Test de synergie :

Principe :

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam) [125].

Technique :

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10 μ g) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G (Céfotaxime : CTX 30 μ g ou Ceftriaxone : CRO 30 μ g). Incuber 18 h à 35°C [125].

Remarque : Cette technique permet la mise en évidence des TEM et SHV.

Pour les autres BLSE de classe A (CTX-M,...) : Le test de synergie doit être fait dans les mêmes conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'AMC à 30mm centre à centre d'un disque de : CAZ, CTX ou CRO et ATM en raison de l'existence de phénotypes de résistance différents (céfotaximase ou ceftazidimase ...)[125].

Lecture et interprétation :

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques : - AMC et CTX - AMC et CAZ - AMC et ATM.



Figure 19 : Souche de *K.pneumoniae* productrice de β -lactamase à spectre élargi.

(Bouchon de champagne) [Originale]



Figure 20: Souche d'*E.coli* productrice de β -lactamase à spectre élargi.

(Bouchon de champagne) [Originale]

Recommandation :

Chez *P.mirabilis*, *P.penneri*, *P.vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, les BLSE s'expriment à bas niveau ; dans ce cas, le test de synergie est optimisé en disposant les disques à une distance de 40 à 45mm au lieu de 30mm.

Absence de synergie :

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

Risque d'erreur d'interprétation :

Chez *Klebsiella oxytoca*, *P.vulgaris*, *P.penneri*, *Citrobacter koseri*, le test de synergie est positif avec aztréonam et / ou ceftriaxone, mais reste négatif avec ceftazidime dont l'activité est conservée, signe d'hyperproduction de β -lactamase naturelle chromosomique ou aztréonamase [125].

- **Test de confirmation ou technique du double disque :**

Ce test devra être fait systématiquement devant :

- L'absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G.
- La présence d'une résistance aux molécules suivantes : ampicilline, ticarcilline, céfazoline avec un diamètre < 6mm, par contre l'AMC présente un diamètre d'inhibition.

Technique :

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

- Appliquer les disques d'antibiotiques : Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) à une distance de 30mm (centre à centre).
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut.
- Après 1 h d'incubation, ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de CTX ou CRO.
- Incuber la boîte 18 h à 35°C.
- La même technique est réalisée en parallèle pour la souche : *E.coli* ATCC 25922 non productrice de BLSE [125].

Lecture et interprétation :

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque AMC est 5mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G [125].



Figure 21: Test du double disque positif.

[Originale]

C- Recherche de la résistance chez *P.aeruginosa* et *A.baumannii* :

Au niveau de notre laboratoire, la recherche de la multi-résistance chez *P.aeruginosa* et *A.baumannii* est basée sur les résultats de l'antibiogramme par diffusion des disques et par la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

- **Antibiogramme par diffusion :**

Tableau 14 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *P.aeruginosa* et *A.baumannii*

| Disques d'ATB Bactéries | CAZ (30 µg) | | | IMP (10 µg) | | | CIP (5 µg) | | |
|----------------------------|-------------|-------|----|-------------|-------|----|------------|-------|----|
| | R | I | S | R | I | S | R | I | S |
| <i>P.aeruginosa</i> | 14 | 15-17 | 18 | 13 | 14-15 | 16 | 15 | 16-20 | 21 |
| <i>A.baumannii</i> | 14 | 15-17 | 18 | 13 | 14-15 | 16 | 15 | 16-20 | 21 |



Figure 22 : Un antibiogramme d'un *A.baumannii* toto-résistant [Originale].



Figure 23 : Un antibiogramme d'un *P.aeruginosa* multi-résistant [203].

Pour l'ABRI (*A.baumannii* résistant à l'imipénème) la détermination de la CMI de l'imipénème est nécessaire pour compléter les résultats de l'antibiogramme.

- **Détermination de la CMI par bandelettes E-test :**

Principe :

Cette technique, utilisant des bandes imprégnées d'un gradient de concentration de l'ATB (IMP), permet d'obtenir simplement et rapidement une détermination de la CMI, dans les mêmes conditions que l'antibiogramme standard. En routine, elle constitue une alternative acceptable à la méthode de référence [76].

Technique :

- Ensemencer l'inoculum bactérien sur gélose Mueller-Hinton
- Déposer au centre la bandelette E-test qui comporte des concentrations croissantes de l'imipénème allant de 0.02 à 32 µg/ml. (**Annexe VIII**)

Lecture et interprétation :

Après incubation de 24 h à 37°C, la valeur lisible à la zone d'intersection entre la bandelette et l'ellipse de croissance bactérienne correspondra à la CMI.

Tableau 15 : Valeurs critiques de CMI (IMP) pour *A.baumannii*.

| CMI critique (µg/ml) | | |
|----------------------|----------|----------|
| R | I | S |
| 16 | 8 | 4 |

CHAPITRE
VII :
RESULTATS

CHAPITRE VII : RESULTATS

VII.1. Résultats généraux :

Durant les deux ans d'étude, **624** prélèvements ont été reçus, dont **287 (45.99 %)** étaient positifs.

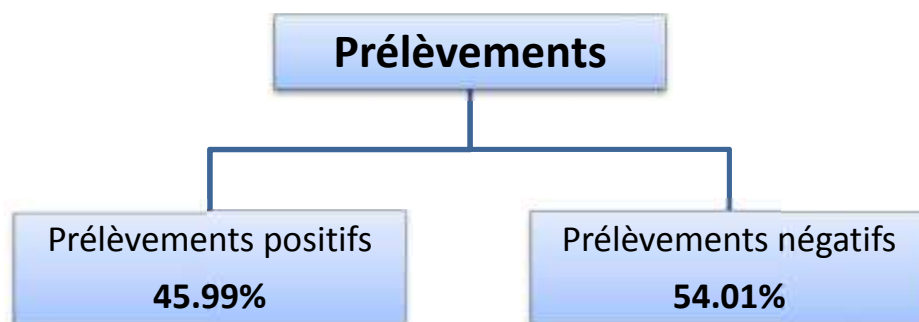


Figure 24 : Répartition des prélèvements.

VII.1.1. Répartition des prélèvements reçus selon le type et par année :

Le nombre des prélèvements reçus a fortement augmenté durant la 2^{ème} année de l'étude pour chaque type de prélèvement. En effet, le nombre de prélèvements reçus a triplé voir quadruplé ; de **126** prélèvements en **2015** à **498** en **2016**.

Tableau 16 : Répartition des prélèvements reçus selon le type par année.

| Type du prélèvement | L'année du prélèvement | Nombre des prélèvements positifs (+) | Nombre des prélèvements négatifs (-) | Nombre total des prélèvements |
|-------------------------|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|
| <i>Urines</i> | 2015 | 13 | 32 | 45 |
| | 2016 | 28 | 121 | 149 |
| <i>Hémocultures</i> | 2015 | 27 | 30 | 57 |
| | 2016 | 110 | 106 | 216 |
| <i>LCR</i> | 2015 | 1 | 6 | 7 |
| | 2016 | 3 | 12 | 15 |
| <i>PDP</i> | 2015 | 4 | 1 | 5 |
| | 2016 | 65 | 28 | 93 |
| <i>Pus et sérosités</i> | 2015 | 9 | 3 | 12 |
| | 2016 | 23 | 2 | 25 |
| TOTAL | | 283 | 371 | 624 |

VII.1.2. Répartition du nombre des bactéries isolées selon le type de prélèvement et par année :

443 souches bactériennes étaient isolées des différents prélèvements : 86 souches en 2015 et 357 souches en 2016.

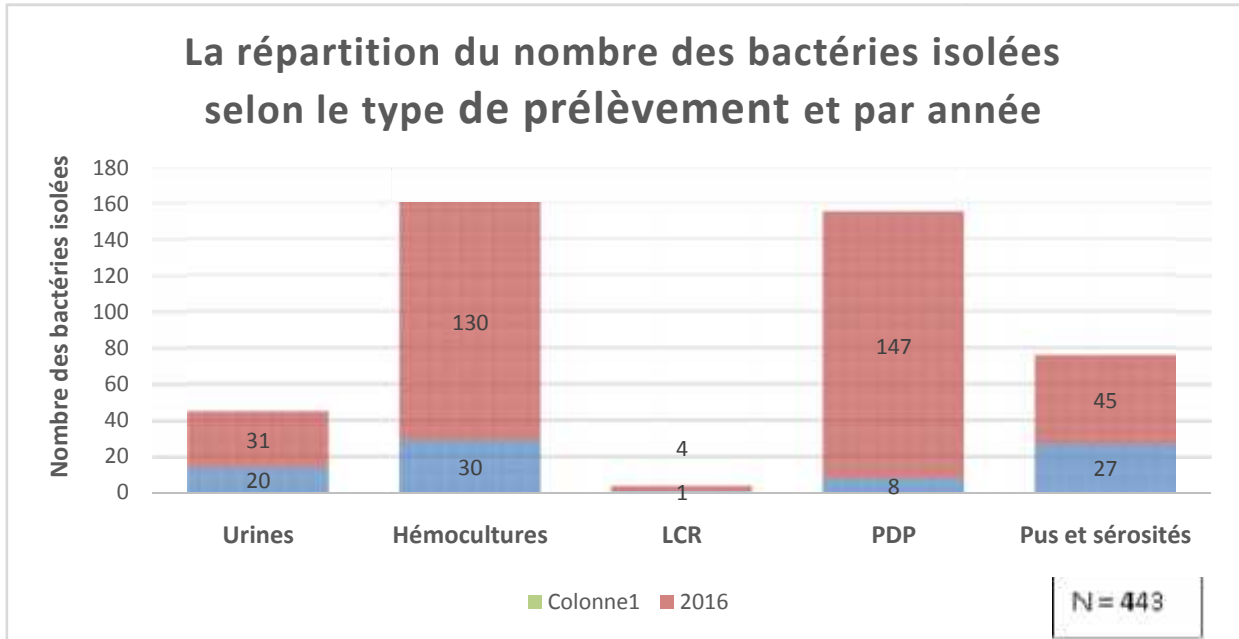


Figure 25 : Répartition du nombre des bactéries isolées selon le type de prélèvement et par année.

VII.2. Etude des bactéries multi-résistantes isolées :

VII.2.1. Taux des BMR isolées :

Sur les 443 souches bactériennes isolées, 169 (38.15%) étaient des BMR.

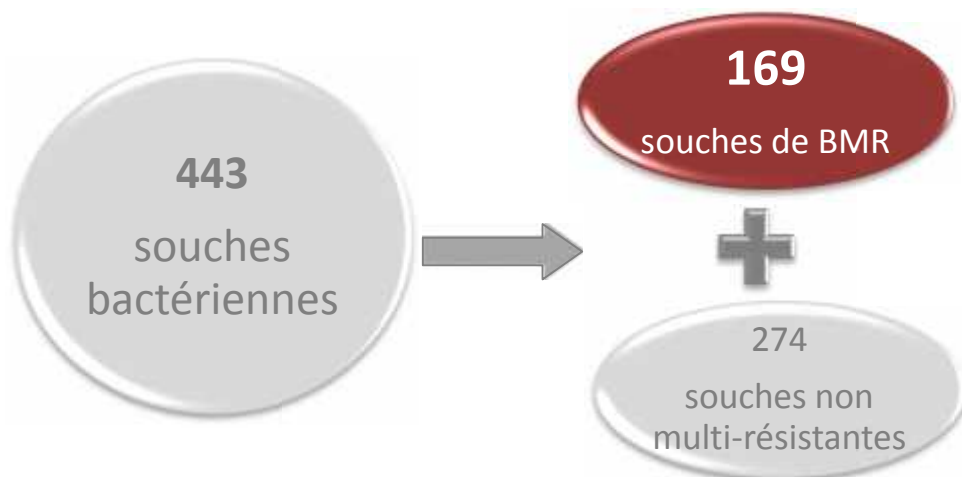


Figure 26 : Répartition des souches bactériennes isolées.

VII.2.2. Répartition du taux des BMR par année d'isolement :

Les **169** souches de BMR sont réparties comme suit : **29/86 (33.72%)** souches en 2015 et **140/357 (39.21%)** souches en 2016.

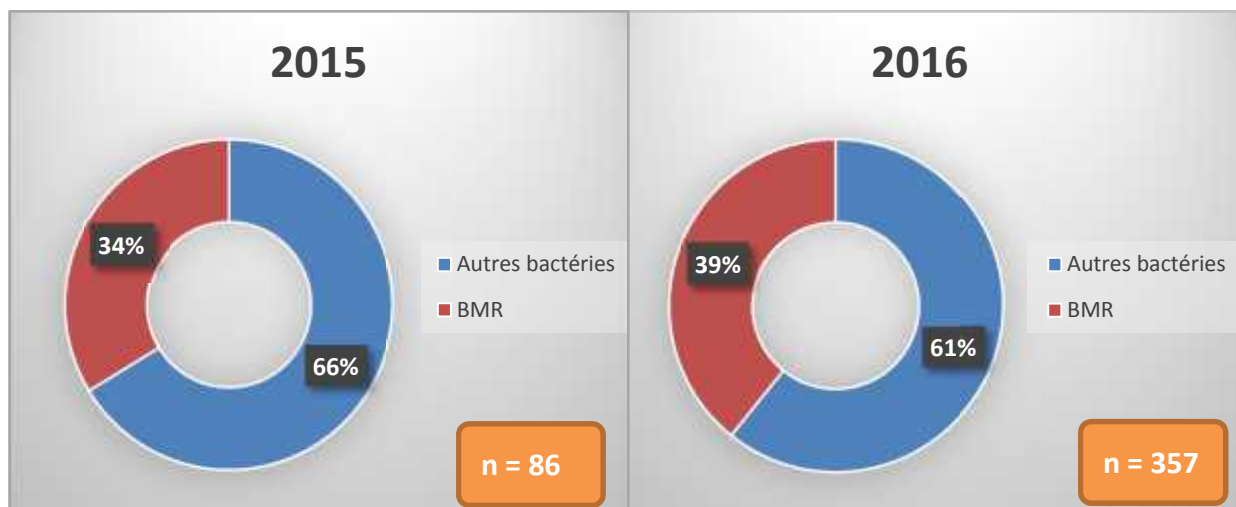


Figure 27 : Répartition des souches de BMR isolées par l'année d'isolement.

On remarque que la proportion des bactéries multi-résistantes a augmenté de **5%** entre les deux années de l'étude.

VII.2.3. Répartition des BMR isolées selon le type du prélèvement :

Les BMR ont été abondamment isolées à partir des PDP suivi des hémocultures, des pus et sérosités, des urines et enfin de LCR, avec des taux respectifs de : **41.42%, 26.62%, 20.71%, 10.65%** et **0.59%**.

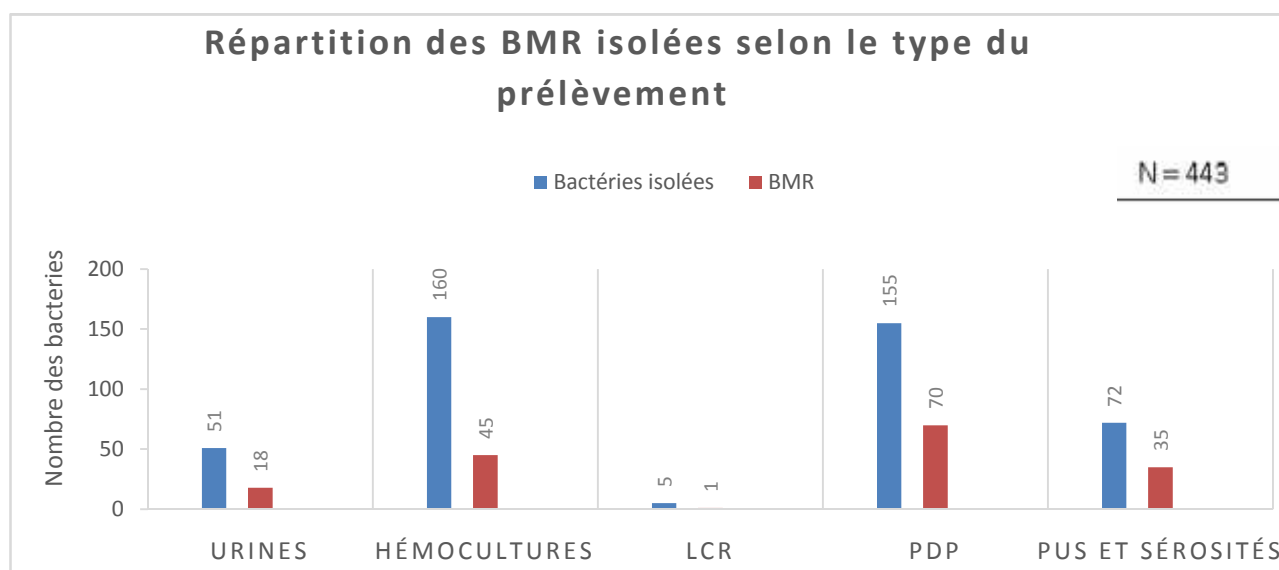


Figure 28 : Répartition des BMR isolées selon le type du prélèvement.

VII.2.4. Répartition des BMR isolées :

Sur les deux années d'étude, on note que la BMR qui prédomine est *A.baumannii* multi-résistante (**80** souches), suivi des Enterobactéries productrices de β -actamases à spectre élargi (**57** souches), de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (**24** souches) et enfin de *P.aeruginosa* multi-résistant (**8** souches).

Parmi les **57** souches d'EBLSE, la *K.pneumoniae* est l'espèce majoritaire (**33** souches) suivi d'*E.coli* (**13** souches), de *P.mirabilis* (**6** souches) et enfin d'*E.cloacae* (**5** souches). Concernant les autres espèces d'entérobactéries, aucune souche productrice de β -lactamases à spectre élargi n'a été isolée.

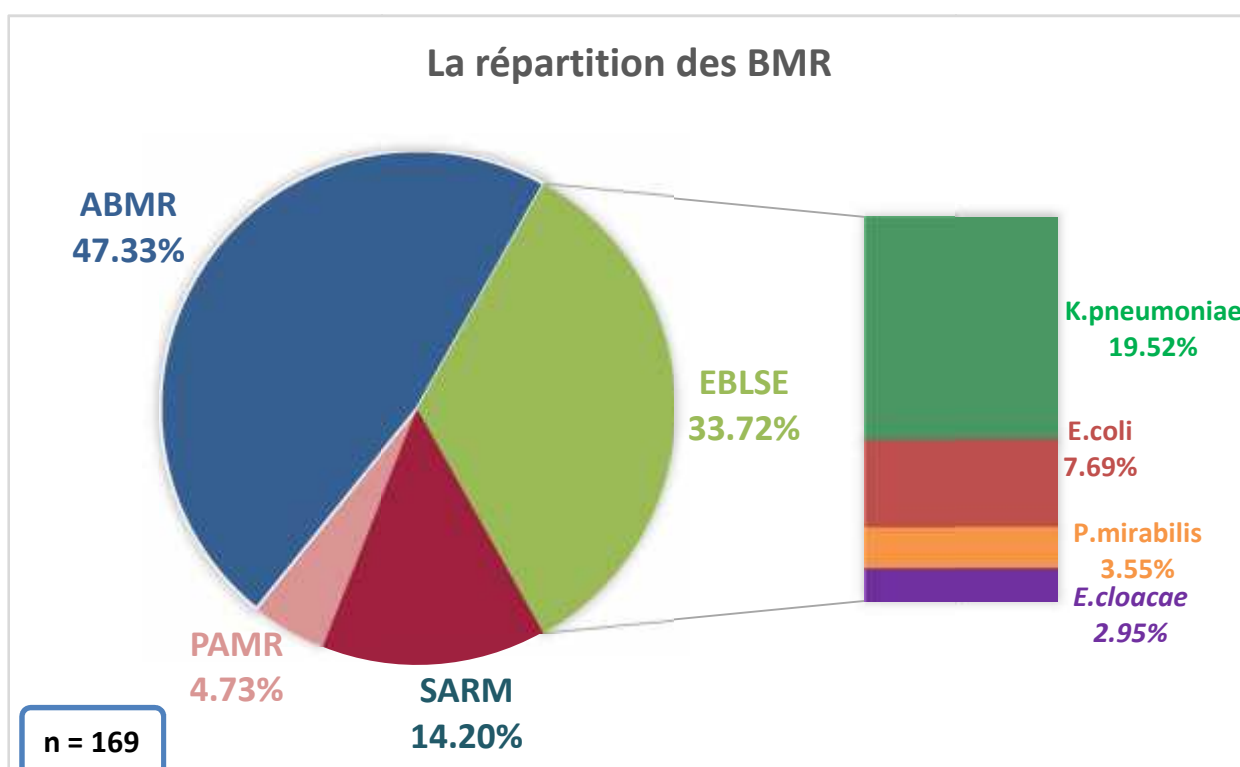


Figure 29 : Répartition des BMR isolées selon l'espèce bactérienne.

VII.2.5. Répartition des différentes BMR selon le type de prélèvement :

La figure montre que l'ABMR est la BMR la plus isolée à partir des hémocultures et des PDP, tandis que les EBLSE sont dominantes dans les urines et dans les pus et sérosités.

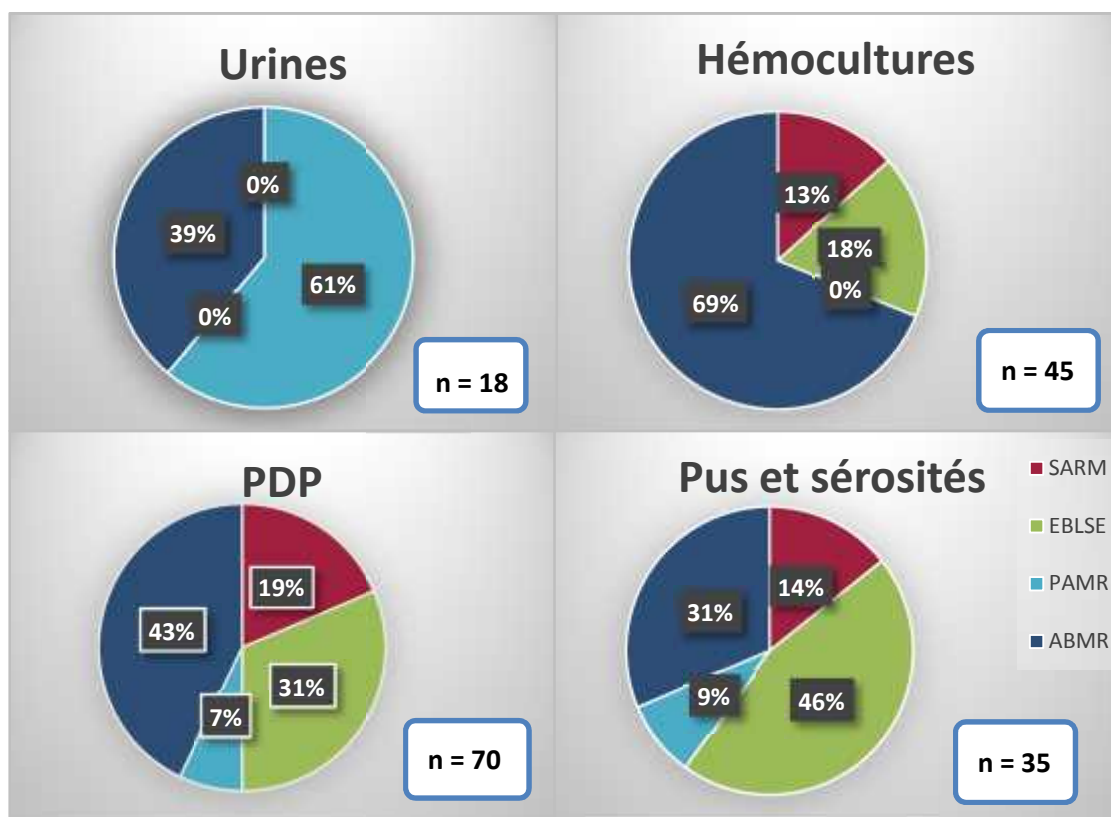


Figure 30 : Répartition des différentes BMR isolées selon le type de prélèvement.

VII.2.6. Taux de BMR au sein des principales bactéries isolées:

La figure montre que l'espèce bactérienne qui possède la fréquence la plus élevée de multi-résistance est l'*A.baumannii* avec un taux de **98.76%**, en deuxième position le *S.aureus* (**61.53%**), puis les Enterobactéries (**47.89%**) et enfin le *P.aeruginosa* (**13.33%**).

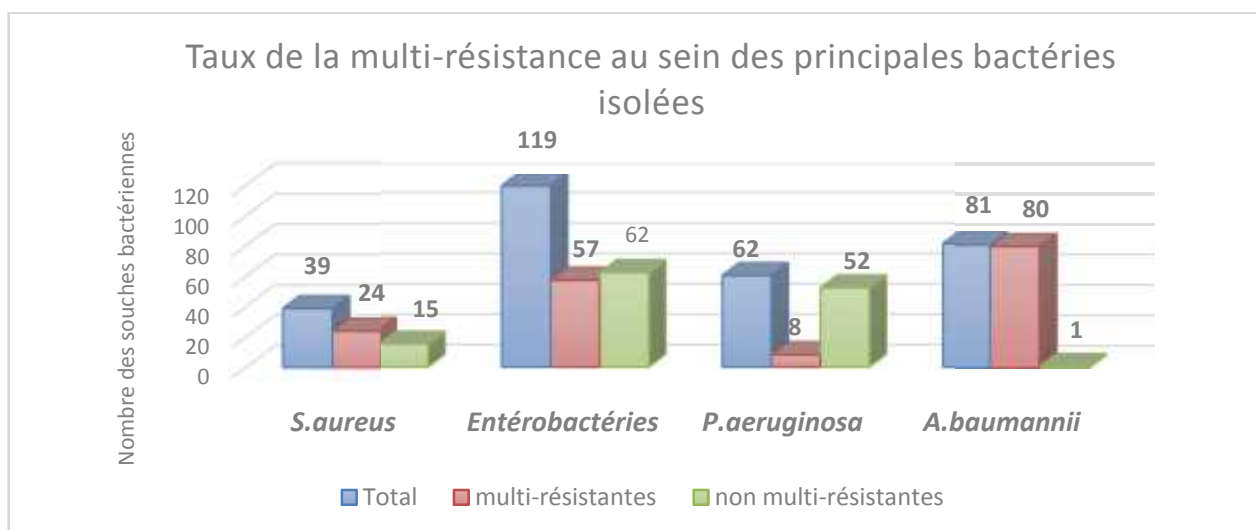


Figure 31 : Taux de la multi-résistance au sein des principales bactéries isolées.

VII.2.7. La résistance des staphylocoques à la méticilline :

Le taux des souches de SARM isolées des différents prélèvements provenant de la réanimation est de **14.2 % (24 souches parmi 169 souches de BMR)**, ce qui correspond à **24/39 souches de *S.aureus* (61.5 %)**. On a remarqué la présence d'un nombre important des MRSCN (meticillino-résistant *Staphyloccus coagulase négatif*) qui est de **43 souches pour 73 souches de SCN (58.9 %)**.

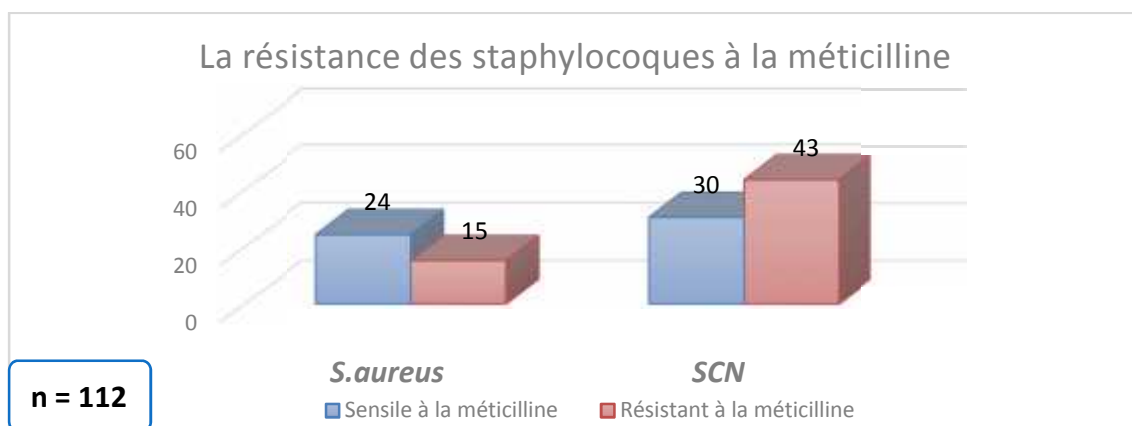


Figure 32 : La résistance des staphylocoques à la méticilline

VII.2.8. Répartition des Enterobactéries selon le profil BLSE :

Dans la présente étude, l'espèce d'entérobactéries la plus résistante est la *K.pneumoniae* (**61%** des isolats de cette espèce étaient productrices de BLSE), suivie d'*E.coli* (**59%**), d'*E.cloacae* (**45%**) et enfin de *P.mirabilis* (**29%**). Aucune souche productrice de BLSE n'était isolée chez les autres espèces.

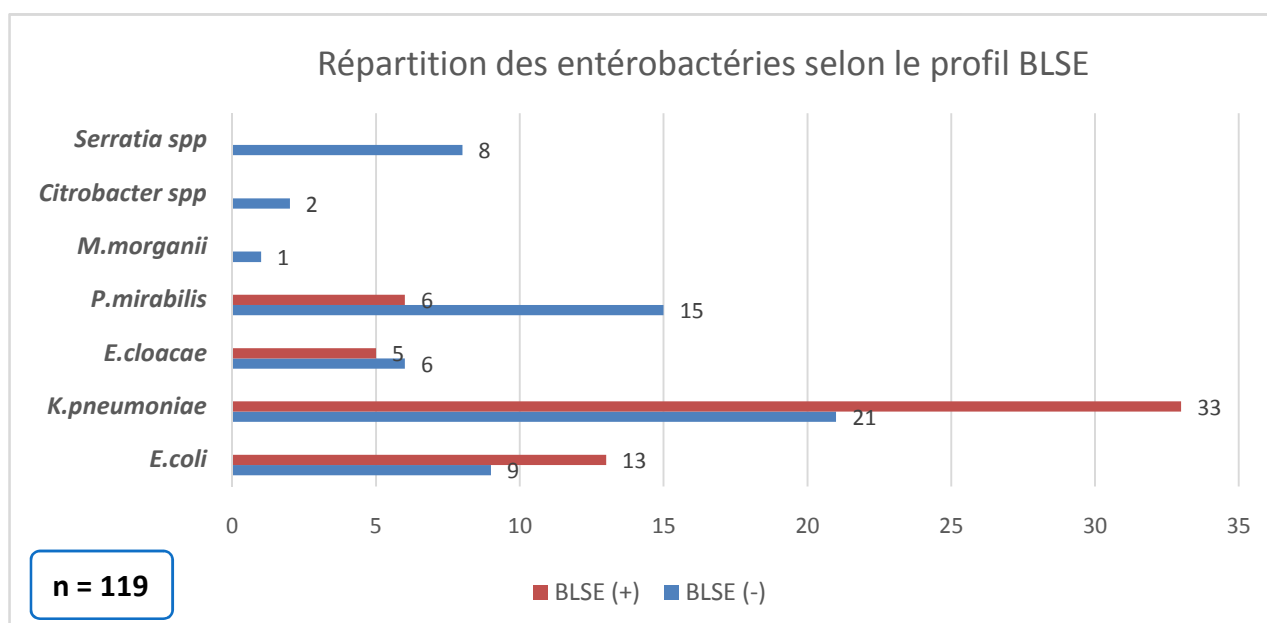


Figure 33 : Répartition des entérobactéries selon le profil BLSE.

VII.2.9. La multi-résistance de *P.aeruginosa* et d'*A.baumannii* :

L'étude de la résistance aux ATB a montré chez *A.baumannii* un taux alarmant de résistance aux -lactamines ; la quasi-totalité des souches étaient résistantes à la CAZ **74%** (60/81) et **66.6%** (54/81) résistantes à l'IMP, ces taux sont aussi inquiétants que ceux de la résistance aux fluoroquinolones ; en effet **84.9%** (68/81) étaient résistantes à la CIP. Parmi ces souches résistantes **45.7%** étaient toto-résistantes (CAZ-IMP et CIP résistantes).

La multi-résistance chez *A.baumannii*

N = 81

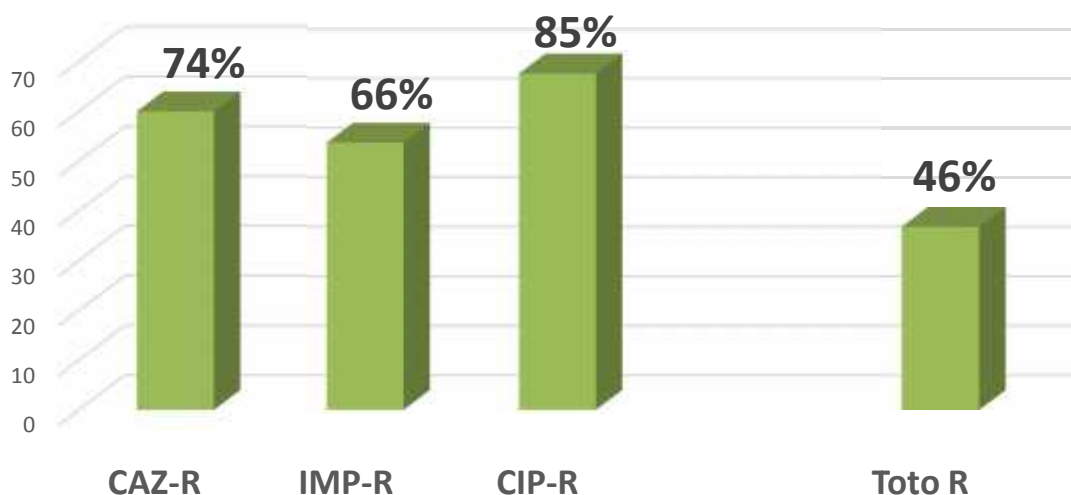


Figure 34 : La multi-résistance chez *A.baumannii*.

Les CMI (IMP) a été déterminée chez **35** souches d'*A.baumannii*. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 17 : Les valeurs des CMI (IMP)chez **35** souches d'*A.baumannii* [125].

| CMI = 4 | CMI = 6 | CMI = 8 | CMI = 12 |
|---------|---------|---------|----------|
| 1 | 9 | 22 | 3 |

Concernant les *P.aeruginosa*, on observe que : **7%** des souches (4/60) étaient résistantes à la CAZ, **10%** (6/60) à l'IMP et **1.6%** (1/60) à la CIP. Parmi ces souches, une seule était toto-résistante **1.6%**.

Dans notre étude, la Colistine était testée pour **08** PAMR isolées, et elle a resté active sur toutes les souches.

VII.2.10. Les résistances associées :

- SARM :

Chez les SARM, on relève **85.71%**, **55.55%**, **13.63%** et **63.63%** des souches testées étaient non sensibles (R+I) respectivement à : l'amikacine, la gentamycine, l'érythromycine et l'ofloxacine, les deux souches testées pour la ciprofloxacine reviennent résistantes et aucune résistance à la vancomycine ni à la teicoplanine n'a été signalée.

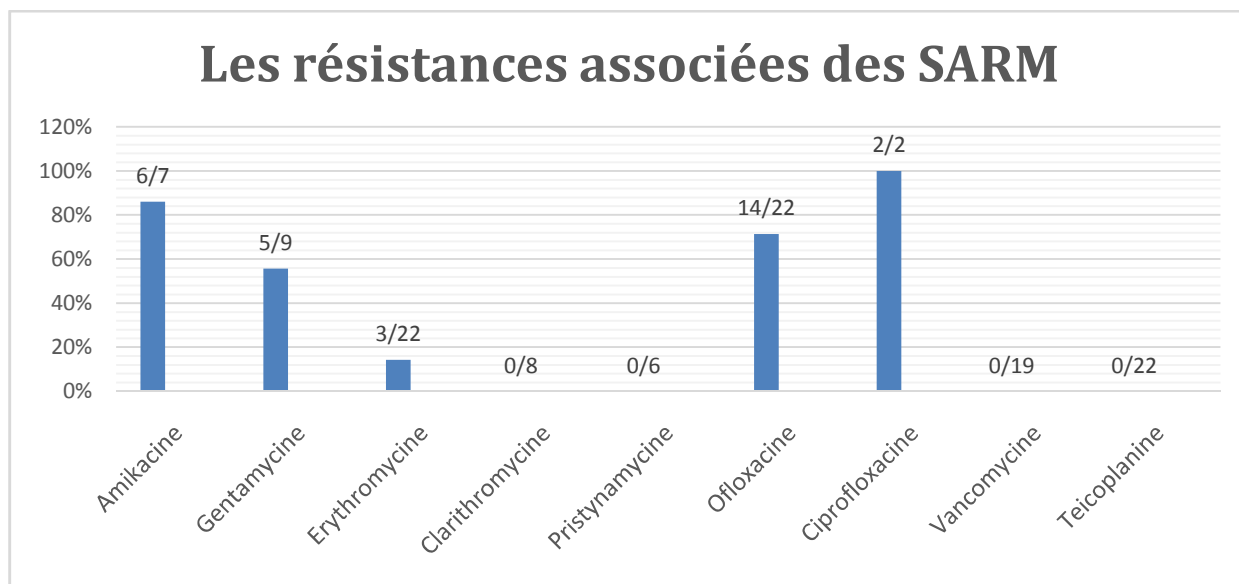


Figure 35 : Les résistances associées des SARM.

- EBLSE :

Notre analyse a également mis en évidence chez les EBLSE que **13.33%** des souches testées (6/45) étaient non sensibles à l'amikacine, **72.72%** (24/33) à la gentamicine, **43.9 %** (18/41) à la CIP et aucune résistance à l'IMP (0/43) ni à la fosfomycine (0/4) n'a été signalée.

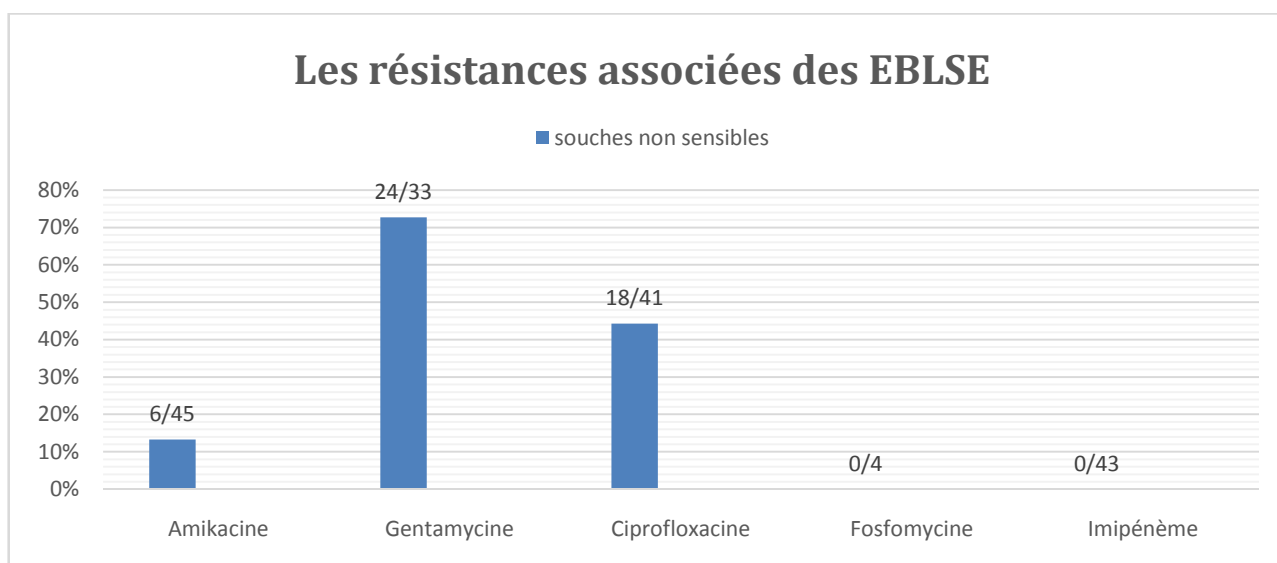


Figure 36 : Les résistances associées aux autres antibiotiques des EBLSE.

CHAPITRE

VIII :

DISCUSSION

CHAPITRE VIII : DISCUSSION

Nous avons effectué une étude rétrospective afin d'évaluer le taux et l'implication en pathologie des BMR au sein de l'unité de réanimation du service des UMC du CHU Blida.

Dans notre étude, nous avons ciblés la majorité des bactéries multi-résistantes responsables des infections nosocomiales en réanimation : SARM, les EBLSE, le PAMR et l'ABMR qui sont les souches multi-résistantes les plus répandues et doivent faire l'objet d'une surveillance particulière.

Dans de nombreux services hospitaliers, la survenue d'infections à bactéries multi-résistantes, seulement sensibles à un petit nombre de familles ou sous familles d'antibiotiques, est devenue une préoccupation majeure. Les résultats de plusieurs enquêtes montrent que la plus grande prévalence de BMR se trouve en réanimation [1].

Durant la période de l'étude, nous avons recensé **624** prélèvements dont **283**(45,3%) sont revenus positifs et sur lesquels **443** souches bactériennes étaient isolées. Ce taux confirme que la documentation des infections bactériennes dans les unités de soins intensifs est importante [9].

Concernant la multi-résistance des bactéries, nos résultats révèlent que **38.15 % (169/443)** des bactéries isolées en réanimation étaient des BMR, une prévalence beaucoup plus élevée (**66%** de BMR) a été identifiée dans une étude réalisée dans l'unité de soins intensifs du CHU-Benbadis Constantine en 2011 [66]. L'installation des BMR en réanimation s'est faite dès la première année qui a suivi l'inauguration de l'unité, ces germes ont continué à sévir l'année d'après, en effet, le taux de ces derniers était de **34%(29/86)** en **2015** et de **39% (140/357)** en **2016**. L'augmentation du nombre des BMR isolées est relative à l'augmentation du nombre de prélèvements reçus qui a triplé voir quadruplé entre les deux années (de **126** prélèvements en 2015 à **498** en 2016). Mais nous avons constaté une légère augmentation de la multi-résistance, qui est de **5%**. Cette augmentation n'est pas significative numériquement mais elle est de lourde conséquence sur le plan pathologique et économique. On peut conclure que malgré les signalements de la présence de BMR au sein de l'unité, aucune mesure préventive n'a été prise.

Notre étude a montré que la BMR prédominante est l'*A.baumannii* multi-résistant (**80 /169** souches), suivi des entérobactéries productrices de -lactamases à spectre élargi (**57/169** souches), de *S.aureus* résistant à la méticilline (**24/169** souches) et enfin de *P.aeruginosa* multirésistante (**8/169** souches). Les résultats obtenus sont compatibles avec ceux de plusieurs études internationales qui rapportent que le germe multi-résistant le plus incriminé est l'*A.baumannii* au niveau des services de réanimation [49]. Mais ce constat est différent de celui rapporté par des études européennes qui rapportent toujours le SARM comme principal BMR, en raison de l'efficacité des mesures de lutte contre l'infection nosocomiale dans ces pays [155].

Notre étude rapporte que l'hémoculture est le prélèvement qui a présenté le taux le plus élevé en matière de positivité suivi du PDP, avec des taux respectifs de **48.40% (137/283)** et de **24.38% (69/283)**. Nos données concordent parfaitement avec ceux rapportée par l'équipe de Coline Grisotto [71]. En revanche le PDP est le prélèvement le plus riche en BMR avec un taux de **41.42% (70/169)**. Les germes multi-résistants isolés à partir de ce dernier étaient surtout des BGN, dominés par l'ABMR (**30/70 = 42.85%**).

La résistance à la méticilline est de l'ordre de **61.53% (24 SARM /39 *S.aureus*)**. Ce taux est relativement faible par rapport à celui rapporté par l'équipe de Constantine où **91%** des *S.aureus* étaient des SARM [66]. Les données sur le SARM semblent plus hétérogènes selon les pays [58]. Au Maroc, une étude réalisée au CHU international « Cheikh Zaid » de Rabat a montré que le SARM représentait **37.5%** du total des *S.aureus* isolés au niveau des services de réanimation [48]. Des études européennes situent toujours le SARM comme principal germe multi-résistant malgré la baisse ces dernières années de son incidence [27-92].

Dans la présente étude, les isolats de *K.pneumoniae* productrices de BLSE sont de l'ordre **61% (33/54 souches de *K.pneumoniae* isolées)**. Cette prévalence est élevée par rapport à des études nord-américaines ou européennes, (**29,7%** aux Etats-Unis [36] et **25,5%** en Allemagne [106]), similaire à celle décrite au CHU Annaba, pour l'Arabie Saoudite [108] et l'Amérique latine [104] et inférieure à celle enregistrée en Turquie (**80%**) [2], et en Inde (**96%**) [149]. Par contre la prévalence de la production de BLSE est de **59%** pour *E.coli*, elle est inférieure à celle de l'Inde (**91%**) [149], similaire à celle de l'Arabie Saoudite (**60%**) [108], légèrement supérieure à celle de la Turquie (**50%**) [2] et fortement supérieure à celle de CHU Annaba (**16%**). Toutes ces données confirment que les bactéries productrices de BLSE ont causé de nombreuses épidémies au niveau local, régional et international, ayant fréquemment comme foyer d'origine les services de réanimation [145].

Nous avons constaté une différence entre les taux d'isolement des deux BGNnf, où on note une dominance d'*A.baumannii* (**81** souches isolées) par rapport à *P.aeruginosa* (**60** souches). Cette différence peut être interpréter par la présence d'une compétition entre ces deux espèces. Une étude a déterminé qu'*Acinetobacter* est le plus fréquent par rapport au *Pseudomonas* lorsque ces deux souches ont été cultivées ensemble dans un chémostat avec des concentrations limitées d'alcool benzylique (source de carbone et d'énergie) [19]. Ainsi, ces différences peuvent être également liées aux types de prélèvements pratiqués et à l'écologie bactérienne des hôpitaux [133].

L'étude de la résistance chez *A.baumannii* a révélé un taux alarmant de résistance aux - lactamines ; la quasi-totalité des souches étaient résistantes à la CAZ (**75%**), ce taux est proche de celui retrouvé dans des études en Tunisie (**71%**) [10] et au Maroc (**69%**) [47]. La résistance à l'IMP est de **66.6% (54/81)**, ce taux est relativement bas de celui rapportée par l'AARN 2015 (**83%**), et par les études du Maroc (**100%**) [47]. Par contre, il est plus élevé que celui rapporté par les études Tunisiennes (**37%**) [10]. La résistance aux fluoroquinolones est aussi très inquiétante, en effet, **85%** des *A.baumannii* étaient résistantes à la ciprofloxacine, ce taux est proche de celui du Maroc (**88.5%**) [47].

Depuis quelques décennies, l'*A.baumannii* pose de grands problèmes thérapeutiques partout dans le monde, principalement dans les services de réanimation. La capacité de survie dans des conditions rudimentaires (l'*Acinetobacter* résiste à la dessiccation pendant plusieurs semaines et sur les mains plus de 60 minutes [107-118]), 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'émergence de la résistance aux carbapénèmes chez *A.baumannii* est devenue une préoccupation mondiale dans la mesure où ces molécules sont souvent le traitement efficace contre les souches multi-résistantes [47-49].

Dans notre étude, le taux de la résistance est très faible pour le *P.aeruginosa*, qui est de 7%, 10% et 1.6% à la céftazidime, à l'imipénème et à la ciprofloxacine respectivement. Ce taux est très bas comparativement à une étude tunisienne, avec les fréquences suivantes : 45.6%, 35.6% et 54% de la résistance à la céftazidime, à l'imipénème et à la ciprofloxacine respectivement [10].

Nous avons aussi analysé les résistances aux antibiotiques autres que les β -lactamines associées à la méticillino-résistance. Elles sont respectivement de l'ordre de 85.71% (6/7), 55.55% (5/9), 13.63% (3/22), 63.63% (14/22) et 100% (2/2) à l'amikacine, à la gentamicine, à l'erythromycine et à l'ofloxacine et la ciprofloxacine. Aucune résistance à la vancomycine ni à la teicoplanine n'a été détectée. Une autre étude réalisée à Rabat et publiée par Elhamzaoui et al [48], a retrouvé que 54% de SARM étaient résistantes à la gentamicine et toutes ces souches étaient sensibles aux glycopeptides. La résistance à l'oxacilline est le plus souvent associée à une résistance aux aminosides (95%), aux fluoroquinolones (90%) et aux macrolides (95%) [93].

Le profil de multi-résistance des SARM hospitaliers est dû au fait que le gène *mecA* est porté par un élément chromosomique qui contient également d'autres gènes de résistance aux métaux lourds et à d'autres antibiotiques [178].

Concernant les résistances associées aux antibiotiques chez les EBLSE, on constate que 13.33% (6/45) des souches testées étaient non sensibles à l'amikacine, 72.72% (24/33) à la gentamicine, 43.90% (18/41) à la ciprofloxacine et aucune résistance à l'IMP (0/43) ni à la fosfomycine (0/4) n'a été signalée.

Les gènes des BLSE sont généralement portés par des plasmides transférables de grande taille (85–275Kb) sur lesquels ils sont souvent associés à des gènes codant pour la résistance aux aminosides, au chloramphénicol, aux sulfamides, au triméthoprim, aux cyclines et aux fluoroquinolones [11].

Ces antibiotiques représentent le traitement de choix des infections à SARM et EBLE ce qui justifie l'étude de la sensibilité de ces derniers.

Cette situation est évidemment due à la conjonction de la fréquence d'utilisation des dispositifs invasifs, séjour prolongé, de la réduction des défenses associée à l'immunodépression et l'utilisation intensive d'antibiotique. Cette dernière a favorisé l'émergence de ces souches, obligeant les cliniciens à prescrire des antibiotiques au spectre de plus en plus large. Prenant l'exemple de l'Europe, ou les pays du Sud sont les plus gros consommateurs d'antibiotiques et rapportent en parallèle les taux de résistance les plus élevés [6].

L'analyse globale des données microbiologiques met l'accent sur deux points essentiels :

- La prédominance de l'*A.baumannii* multi-résistant dans le service de réanimation avec **47.33%** (**80** souches l'*A.baumannii* multi-résistant/**169** souches de BMR) ;
- Sa grande implication dans les différentes pathogénités, en particulier, les pneumopathies nosocomiales (**30** souches l'*A.baumannii* multi-résistant /**70** souches de BMR isolées à partir des PDP).

Depuis quelques années, l'*A.baumannii* est considéré comme un pathogène opportuniste responsable d'un taux croissant d'infections sévères en réanimation, dont les pneumopathies principalement [127]. Cette bactérie adhère facilement non seulement à des surfaces biologiques mais aussi abiotiques, sur laquelle il est capable de former des biofilms ce qui facilite le processus de colonisation du matériel prothétique (appareils de ventilation) [69], dont la manifestation la plus frappante d'*A.baumannii* est l'apparition endémique et épidémique des souches multi-résistantes dans les hôpitaux. La gravité et l'évolution souvent fatale de ces infections sont dues à la conjonction d'un terrain immunodéprimé et à une bactérie ayant une capacité d'acquérir et d'accumuler les facteurs de résistance à de nombreux antibiotiques [67].

La présente étude a plusieurs limitations. Tout d'abord, la transmission patient- patient n'a pas été étudiée vu l'absence d'analyse des souches par biologie moléculaire, d'autre part le statut de portage des germes au moment de l'admission n'était pas connu.

Il est à noter que nos résultats ont été difficiles à comparer à d'autres études parce que ces dernières ne s'intéressent qu'à une seule espèce bactérienne, à un seul type d'infection ou ont été restreintes à certains services. De même, la période de notre étude était relativement courte pour des meilleurs résultats.

RECOMMAND- ATIONS

RECOMMANDATIONS

Face à l'accroissement constant de la résistance des bactéries dans nos hôpitaux et en particulier en réanimation, il apparaissait logique d'élaborer des recommandations spécifiques pour ces organismes multi-résistants.

Ces recommandations ont pour objectif d'optimiser la détection des germes multi-résistants au laboratoire et de tenter d'apporter des réponses pratiques sur les mesures utiles à appliquer en matière de prévention, de surveillance et de contrôle de la transmission croisée de ces organismes.

Nos recommandations sont destinées aux différentes structures sanitaires :

1. Au service de réanimation :

- Concernant l'environnement architectural et matériel :
 - Avoir un environnement architectural et matériel facilitant les isolements géographique et technique du patient porteur de BMR.
 - Gérer les stocks de consommables, la maintenance des matériels :
 - identifier et former les personnes responsables de leurs gestions ;
 - identifier un lieu de stockage et d'entretien ;
 - élaborer des protocoles écrits pour leur gestion.
 - N'introduire dans la chambre que le strict nécessaire (notamment ne pas introduire les dossiers médicaux).
 - Pour certaines BMR, l'environnement immédiat des patients porteurs peut être contaminé et nécessite un nettoyage et une désinfection adaptés : points d'eau et surfaces pour le PAMR et pour l'ABMR.
 - L'installation d'au moins un lavabo équipé (distributeurs de savon liquide et de papier essuie-mains, régulièrement approvisionnés) dans chaque chambre.
- Concernant le personnel soignant :
 - Avoir un personnel qualifié et en nombre adapté à la charge de travail.
 - Impliquer le personnel médical dans l'organisation du travail.
 - Définir chaque poste de travail et responsabiliser chaque membre de l'équipe.
 - Former le personnel à la maîtrise de la diffusion des BMR (prise de conscience des risques et mesures préventives).
 - Le personnel soignant doit signaler les patients porteurs de BMR (pictogramme commun).
 - Améliorer les mesures d'hygiène (la désinfection des mains par une utilisation étendue des solutions hydro-alcooliques).
 - Ne pas introduire tout personnel étranger au service dans la chambre.

2. Au laboratoire de microbiologie :

- Dépistage systématique des patients à l'admission et du personnel soignant médical et paramédical à la recherche des SARM et EBLSE.
- Signalisation : La notification rapide et claire par le laboratoire qui permet de faire connaître à l'équipe soignante les patients porteurs de BMR. La notification repose sur :
 - le contact personnalisé entre le biologiste et l'équipe soignante ;
 - la mention du caractère multi-résistant de la bactérie sur la feuille de résultats (une fiche de signalisation de BMR est proposée ci-après).
- Informer régulièrement le personnel de l'évolution de la situation épidémiologique.
- Développer un outil moléculaire de surveillance des résistances bactériennes aux ATB.

3. Au Centre Hospitalo-Universitaire:

- Créer un poste de médecin infectiologue ou hygiéniste en réanimation : c'est un acteur qui organise la prise en charge des patients porteurs de BMR : circulation de l'information, mise en place de précautions complémentaires et suivi épidémiologique.
- Fournir les moyens nécessaires à la mise en pratique des programmes de lutte contre les infections nosocomiales en général, et contre les infections à BMR en particulier.
- Lutte contre la pression de sélection des ATB : Il est indispensable de créer un comité des anti-infectieux au sein de chaque hôpital qui aura pour mission principale l'élaboration d'une politique de l'utilisation rationnelle des ATB. Ce comité doit fonctionner en articulation avec le CLIN, et sa structure et ses missions doivent faire l'objet d'un texte réglementaire.
- Renforcer la qualité des enquêtes de surveillance (en favorisant l'expertise externe : transparence méthodologique, notamment par l'audit, l'implication des usagers, la communication).

4. Aux autorités sanitaires :

- Mettre en place (ou soutenir s'il existe) en collaboration avec le Ministère de la Santé, un programme national de lutte contre les infections nosocomiales à bactéries multi résistantes spécifiquement en réanimation afin de maîtriser la diffusion de ces souches et d'éviter l'évolution vers l'impasse thérapeutique.
- Établir un plan d'action à court, moyen et long terme :
 - Intégrant le programme de maîtrise de la diffusion des BMR dans le projet d'établissement
 - Priorisant les actions à mener et à financer, en fonction de la situation épidémiologique locale et des moyens de l'établissement
 - Intégrant les actions de : prévention, surveillance, évaluation, vigilance (alerte et actions correctives).

« Ce sont moins les recommandations que leurs respect qui importe »

**SIGNALISATION D'UNE BACTERIE MULTI-RESISTANTE AUX
ANTIBIOTIQUES**

IDENTIFICATION DU PATIENT

Nom :

Prénom :

Sexe :

Date de naissance :

RESULTATS DE L'ANALYSE

Réservé au laboratoire :

Site de l'isolement :

- | | | |
|-------------------------------------|---------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> Urines | <input type="checkbox"/> Pulmonaire | <input type="checkbox"/> Cathéter |
| <input type="checkbox"/> Selles | <input type="checkbox"/> Hémocultures | <input type="checkbox"/> Sphère génitale |
| <input type="checkbox"/> Sphère ORL | <input type="checkbox"/> Pus | <input type="checkbox"/> Sphère rectale |
| <input type="checkbox"/> Autres : | | |

Nature de la BMR :

- SARM (*S.aureus* Résistant à la Méricilline) :
- EBLSE (Entérobactérie sécrétrices de -lactamases à spectre élargi) :
- PAMR (*P.aeruginosa* multi-résistant) : CAZ-R IMP-R CIP-R
- ABMR (*A.baumannii* multi-résistant) : CAZ-R IMP-R CIP-R
- Autres :

Réservé au SEMEP :

Précautions complémentaires d'hygiène :

Précautions complémentaires d'hygiène : Oui NON
SI oui : Contact Air Gouttelettes
Date de levée d'isolement : .././....

Traitement antibiotique (Pour BMR) :

Traitement antibiotique proposé :
Durée du traitement :

**Cette fiche doit suivre le patient dans tous ses déplacements et lors des transferts entre les
établissements hospitaliers.**

**UN PORTAGE OU UNE INFECTION A BMR N'EST PAS UNE RAISON DE NON
ADMISSION.**

CONCLUSION

CONCLUSION

La multi-résistance bactérienne constitue un véritable problème thérapeutique en réanimation, il est donc intéressant de voir que ces germes disposent d'un arsenal extrêmement vaste et divers pour contrecarrer l'action antibiotique.

La détection de ces résistances 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.

Ainsi, la lutte contre les BMR est axée sur le bon usage des antibiotiques (réduction de la pression de sélection) 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.

Les situations que vit notre pays sont à notre sens liées à l'absence d'une « culture de prévention ». La prise de conscience doit reposer sur un changement de mentalité qui ne pourra se faire que si, dès l'école, puis au cours des études médicales et infirmières, les programmes d'enseignement inculquent ces notions comme des prérequis pour toute activité de soins, jusqu'à ce qu'elles deviennent des évidences.

REFERENCES

1. BIBLIOGRAPHIE



[1] **Algerian Antimicrobial Resistance Network (AARN):** Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 16^{ème} rapport d'évaluation.(2015) et 9^{ème} rapport d'évaluation (2008).

[2] **Akcay 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 in Istanbul, Turkey .J Infect Dev Ctries,2014,8(5):597-604.

[3] **Aramadan MA. Tawfik AF. Shibl AM :** Effect of bêta-lactamase expression on susceptibility of local isolates of enterobacter cloacae, serratia marcescens and pseudomonas aeruginosa to bêta-lactam antibiotics.Chemotherapy,1995, pages 193-9.

[4] **Arlet G :** La place du diagnostic bactériologique rapide des infections à bactéries multirésistantes; 8^{ème} journée nationale d'hygiène hospitalière et de lutte contre les infections associées aux soins, 2015.

[5] **Arsalane L, Qamouss Y, Chafik A, Boughalem A, Louzi L ;** 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.



[6] **Baran G et al :** Risk factors for nosocomial imipenem resistant Acinetobacter baumannii infection. . Int J Infect Dis 2008; 12(1): 16-21.

[7] **Barbier F et Wolff M;** Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* Vers l'impasse thérapeutique ? Med Sci (Paris) 2010 ; 26 : 960–968.(2010)

[8] **Baudry PJ, Mccracken M, Lagace-Weins P,**

Mulvey MR, Zhanel GG, Hoban DJ, et al. al : Extended spectrum β -lactamases producing Enterobacteriaceae (ESBL-ENT) from patients in Canadian hospitals: CANWARD 2007 and 2008.49thInterscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy San Fransisco:1215 septembre2009:C2-672

[9] **Belkacemi (2011) :** « Journées médicochirurgicales de hôpital de Beni Messous 2011.

[10] **Ben Haj Khalifa A:** Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'Acinetobacter baumannii isolées dans la région de Mahdia (Tunisie).Médecine et maladies infectieuses 2009

[11] **Ben Haj Khalifa A, Khedher M.:** Epidémiologie des souches de Klebsiella spp. uropathogènes productrices de -lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien.Article in press. Path Biol ,2010

[12] **Berger-Bächli B :** Genetic basis of methicillin resistance in Staphylococcus aureus. Cell Mol Life Sci 1999.

[13] **Bergogne-Bérézin E, Towner KJ :** Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens : microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin. Microbiol. Rev., pp.148-165,1996.

[14] **Berthelot P, Grattard F, Patural H, et al :** Nosocomial colonization of premature babies with Klebsiella oxytoca, Infect Control Hosp Epidemiol 2001.

[15] **Billy C :** Detection of bacterial resistance genes : phenotype to genotype, two complementary methods, Réanimation 12 (2003) 192–197.

[16] **Brideau M et al:** Mesures de prévention et de contrôle des infections à Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) au Québec, CINQ, 978-2-550-73459-8 ,(2006).

[17] **Birgand G, Luceta :** - Elsevier Masson SAS – Politique de dépistage des BMR : quand et qui faut-il dépister ?, revue francophone des laboratoires - juin 2013 - n°453 // 29

[18] **Biswal I, Balvinder Singh Arora , Dimple Kasana , Neetushree4:** Incidence of Multidrug Resistant Pseudomonas Aeruginosa Isolated from Burn Patients and Environment of Teaching Institution,Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2014 May, Vol-8(5) : DC26-DC29.

[19] **Bjarke B. Christensen, Janus A. J.**

Haagensen, Arne Heydorn, and Søren Molin : Metabolic Commensalism and Competition in a Two-Species Microbial Consortium. *Appl. Environ. Microbiol*, 2002, n°68(5), p.2495–2502.

[20] **Borg MA, Monen J, et al :** Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in invasive isolates from southern and eastern Mediterranean countries. *J Antimicrob Chemother* 2007 ; 60 : 1310-1315.

[21] **Borg MA, Van de Sande-Bruinsma N, Scicluna E, De Kraker M, Tiemersma E, Monen J, et al :** Antimicrobial resistance in invasive strains of *Escherichia coli* from southern and eastern Mediterranean laboratories. *Clin Microbiol Infect* 2008 ; 14 : 789-796.

[22] **Bouchillon SK, Johnson BM, Hoban DJ, Johnson JL, Dowzicky MJ, Wu DH, et al :** Determining incidence of extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 17 countries : the PEARLS study 2001-2002. *Int J Antimicrob Agents* 2004 ; 24 : 119-124.

[23] **Bouvet PJ, Grimont PA:** Taxonomy of the genus *Acinetobacter*. *Int J Syst Bacteriol* 1986 ; 36 : 228-240 .

[24] **Brun-buisson C et al :** Risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation texte d'orientation SRLF/SFAR, Réanimation 14, 2010,463–471.

[25] **BUSH K, JACOBY GA :** Updated Functional Classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 54, n° 3, p. 969-976, 2009



[26] **Cantón R, Coque TM :** The CTX-M β -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006;9:466-75.

[27] **Carlet J, Benali A :** Existe-t-il une alternative aux glycopeptides pour le traitement des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la métilcilline ? *Réanimation* 2006 ; 15:176–179.

[28] **Carmeli Y, Troillet N :** Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1999 ; 43 : 1379-82.

[29] **Cécilia Bourguignon :** Us et abus des antibiotiques en endodontie. *L'INFORMATION*

DENTAIRE n° 11 - 18 mars 2015.

[30] **Chaplain C :** Conduite à tenir devant une bactérie multirésistante Service d'Hygiène-Bactériologie, Hôpital Delafontaine, 1997,93205 Saint Denis.

[31] **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) :** Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. CLSI Twentieth Informational Supplement, M100-S20. 2010

[32] **Courvalin P and o Perichon B :** VanA-Type Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* ; antimicrobial agents and chemotherapy, Nov. 2009, p. 4580–4587



[33] **DALI Ali Abdessamad. (2015) :** Infection nosocomiale à BMR en réanimation à l'EHUO 2015.

[34] **Daurel C :** faut-il abandonner la vancomycine ?vancomycin what else ?volume 17, supplement 4, septembre2010, pages s121-s128 .

[35] **Davis et al :** Epidemiology and outcomes of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection. *J CLIN Microbiol*, 2007.45 : p 1705-1711

[36] **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. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013 ; 34(1):1-14

[37] **Decré Dominique :** *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques : un modèle d'adaptation. *Rev. francophone des laboratoires*. 441 : 43-52.2012.

[38] **Delacour H, Plésiat P, Cavaloo JD, Jeannot K :** *Pseudomonas aeruginosa* and antibiotic resistance 2011.

[39] **Denis F., Mounier M. and Lawaud A :** Progrès dans le diagnostic des méningites bactériennes. *Rev. Fr. Lab.* 148: 51-57.1986.

[40] **Deschamps PH., Fauchère JL., Simonet M. and Veron M :** Comparaison des performances de milieux commercialisés pour hémocultures : étude faite sur 1580 prélèvements. *Ann. Biol clin.* 1981,39: 29-32.

[41] **Dorneanu O, Vremera T, Nastase E, Logigan C, Iancu L, Miftode E** : Accuracy of Oxacillin Susceptibility Testing Methods for Staphylococcus aureus. *Sectiunea Genetica si Biologie Moleculara*. 2010; XI: 131-134.

[42] **Dryden M** : Clinical Director of Microbiology and Communicable Disease Royal Hampshire Hospital, Winchester, UK .2010

[43] **Ducret A** : **Comparaison de méthodes d'analyse afin d'identifier les Corynebacterium**. Travail de diplôme, 15^e Volée ; Décembre 2011- Avril 2012.

[44] **DUMITRESCU.O** : « Antibiotiques sensibilité et résistance » 2014.



[45] **European Center for Disease Prevention and Control (ECDC)**: antimicrobial resistance in europe ; surveillance report ; 2012 p205.

[46] **EDDAYAB.Y** : Détection des bactéries multirésistantes au laboratoire de bactériologie du CUH de LIMOGES ;Thesepour le diplôme d'état de docteur en pharmacie , 2012.

[47] **El Ghazouani.G** : les infections à germes multiresistants en reanimation ,pour l'obtention du doctorat en medecine, universite cadi ayad ;marrakech,2010.

[48] **Elhamzaoui S, Benouda A, Allali F, Abouqual R, Elouennass M** : Sensibilité aux antibiotiques des souches de Staphylocoques aureus isolées dans deux hôpitaux universitaires à Rabat, Maroc. *Méd Mal Infect* 2009 ; 39:891–895.

[49] **Elouannass M, Bajou T, Lemouer AH, Foissaud V, Hervé V, Baaj AJ** : Acinetobacter baumannii : étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc. *Méd Mal Infect* 2003 ; 33:361–364.

[50] **Elouennas M et al** : épidemiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002-2005) *Med Mal Infect*, 2008.38 : p 18-24.

[51] **Elsen S, Huber P et al** : Une nouvelle arme fatale pour le bacille Pseudomonas aeruginosa, multi-résistant aux antibiotiques ; Résultats scientifiques Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant Lettre n° 39 - Mars 2014 page1.

[52] **Enoch, D. A, Simpson** : Predictive value of isolating Pseudomonas aeruginosa from aerobic and anaerobic blood culture bottles. *Journal of Medical Microbiology*, 53, 1151-1154, (2004).



[53] **FAIQA ARSHAD, IFFET JAVED, SOHAILA MUSHTAQ, SAEED ANWER** : Detection of MecA Mediated Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus by Cefoxitin Disc Diffusion Method and Latex Agglutination Test. 106 P J M H S Vol. 10, NO. 1, JAN – MAR 2016.

[54] **Falagas ME, Kasiakou SK** : Colistin the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 2005 ; 40 : 1333-41.

[55] **Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA** : la diversité des définitions des multirésistante (mdr) et pandrug résistant (pdr) *acinetobacter baumannii* et pseudomonas aeruginosa. *j med microbiol*. 2006; 55 : 1619-29.

[56] **FAUCHERE.J-L, AVRIL.J-L** : Bactériologie générale et médicale, 2^eème édition : Ellipses, P: 141-144 et 141-158.2002.

[57] **Flandrois JP. and Chomart M** : L'examen bactériologique des suppuration. In *Bactériologie Médicale Pratique Medci/Mc Grow*. Paris,1988.

[58] **Forestiera E, Rémya V, Mohseni-Zadeha M, Lesensb O, Jauhlaac 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.

[59] **Fritz H. Kayser, Erik C. Bottger et al** ; *Microbiologie Médicale*, 2008.



[60] **Gales Ac, Jones Rn, Sader HS** : Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against clinical isolates of Gram-negative bacilli : report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). *Clin Microbiol Infect* 2006 ; 12 (4): 315 - 321.

[61] **GAJDOS P et al** : Prévention des infections à bactéries multirésistantes en réanimation : XVIème conférence de consensus de la SRLF 1996.

[62] **Gangoue Pieboji J** : Caractérisation des bêta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse, Université de Liège. Novembre (2007).

[63] **Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, et al** : CDC definitions for nosocomial infections, Am. J. Infect. Control 16,128-140, 1988.

[64] **Garnier F., Chainier D., Walsh T., Karlsson A., Blomström A., Grelaud C., Mounier M., Denis F. and Ploy M.C** : Surveillance des souches de *Staphylococcus aureus* de sensibilité intermédiaire aux glycopeptides pendant 1 an dans un hôpital Français. J Antimicrob Chemother. 57: 146-149;2006.

[65] **Gazagne L, Hernandez B, Nougaret A, Vergely S** : Guide pratique de la maîtrise des bactéries multi résistantes aux antibiotiques. Inter Clin des Hauts Cantons de l'Hérault 2009 ; France.

[66] **Ghouil W, Lamri N, Lebsir N et al** : profil des BMR dans les unités de soins intensifs service de microbiologie CHU Benbadis Canstantine 2010, Les bêta-lactamases de l'antibiogramme à la biologie moléculaire,2011 ; Société Algérienne de Microbiologie.

[67] **Giamarellou H, Antoniadou A** : *Acinetobacter baumannii* : universal threat to public health? Int. J. Antimicrob. Agents, 2008, 32 (2), pp.106–119.

[68] **Godreuil S** : infections nosocomiales et bactéries multirésistantes ;Faculté de Médecine Montpellier - Nîmes ,MB7 : Bactériologie ,2007 .

[69] **Gordon N.C. et Wareham D.W** : Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. International journal of antimicrobial agents 35, 219-226. 2010.

[70] **Gray KJ, Wilson LK, Phiri A, Corkill JE, French N, Hart C.A** : Identification and characterization of ceftriaxone resistance and extended-spectrum beta-lactamases in Malawian bacteraemic Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother 2006 ; 57 : 661-665.

[71] **Grisotto Coline** :Influence de la colonisation à bactérie multirésistantes sur les infections des patients de réanimation médico-chirurgicale,Thèse en vue de l'obtention de doctorat en medecine ; 2015.



[72] **Harris PN, Tambyah PA and Paterson DL** : Beta-lactam and beta-lactamase inhibitor combinations in the treatment of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae : time for a reappraisal in the era of few antibiotic options ? Lancet Infect Dis 2015 ; 15:475-485.

[73] **Hisata K, Kuwahara-Arai K, Yamamoto M et al** : Dissemination of methicillin-resistant staphylococci among healthy Japanese children. J Clin Microbiol 2005.



[74] **Islam Shafiqul** : Démonstration de particules de la membrane externe et antigénique : Protéine (s) d'*Acinetobacter baumannii*. Thèse de doctorat;2009.



[75] **Jans.B, Y.Glupczynski, C.Suetens, E.Van Cleemput** : Enquête épidémiologique relative à *Acinetobacter baumannii* producteur de BLSE (Type VEB-1) en Belgique . Octobre 2004; Bruxelles (Belgique) Institut Scientifique de la Santé Publique, ISP/EPI REPORTS N° 2004 – 18 Numéro de dépôt: D/2004/2505/38

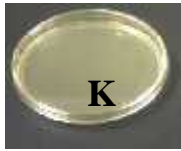
[76] **Joffin et Leyral** : Microbiologie technique. Tome1. Dictionnaire des techniques. 4ème édition. Bordeaux : CRDP d'aquitaine. ISBN : 2-86617-515-8. 363 ,2006.

[77] **Joly-Guillou ML** : Acénitobacter antibiogramme.Biologie médicale [90-05-0010],2003.

[78] **Joly-Guillou ML, Bergogne-Bérézin E** : Les bactéries du genre *Acinetobacter* revisitées : leur importance actuelle. Antibiotiques, 2006, 8 (2), pp.94-99.

[79] **Joly-Guillou ML** : *Acinetobacter baumannii* : Biologie médicale [90-05-0005]- 02/04/2013

[80] **Juan C, Gutierrez O, Oliver A, et al** : Contribution of clonal dissemination and selection of mutants during therapy to *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance in an intensive care unit setting. Clin Microbiol Infect 2005; 11 : 887-92



[81] **Kassis Chikhany N** : *Klebsielle Pneumoniae* pathogène nosocomial, résistance et virulence. Thèse pour l'obtention de grade de docteur de l'université Pierre et Marie Curie - Paris Soutenue le 21 mars 2012.

[82] **Kayser, F.H, Bienz, K** : Medical Microbiology (10th ed.), 2001.

[83] **Kenneth S. Thomson, Ph.D. and Ellen Smith Moland, B.S.M.T** : Comparison of Phoenix and Vitek 2 ESBL : Confirmatory Tests Against *E. coli* and *Klebsiella* Isolates with Well-characterized β -lactamases. ASM, Orlando,FS (2006).

[84] **Kloos WE, Musselwhite MS** : Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. *Appl Microbiol* 1975;30:381-5.

[85] **Kouatchet A, Eveillard M** ; *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline en réanimation Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the intensive care unit, *Réanimation* (2012) 21:493-505 DOI 10.1007/s13546-012-0497-2.

[86] **Kwak YG, Cho YK, Kim JY, et al** : Korean nosocomial infections surveillance system, intensive care unit module report : from July 2009 through June 2010. *Korean J Nosocomial Infect Control*. 2011;16:1-12.



[87] **Labarcab, Maria Virginia Villegasc, Guzmán-Blanco, Jaime A. Eduardo Gotuzzod** : Extended spectrum β -lactamase producers among nosocomial Enterobacteriaceae in Latin America. 2014.

[88] **Lahsoune M, Boutayeb H, Zerouali K, Belabbes H, El Mdaghri N** : Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii* dans un CHU marocain. *Med Mal Infect*. 2007;37:828-831.

[89] **LARPENT, J-P** : Introduction à la nouvelle classification bactérienne, Technique et documentation. Paris. Lavoisier. 261p. 2000.

[90] **Legeay C et al** : Les bêta-lactamases à spectre élargi, quel est le risque en oncopédiatrie volume 4

[91] **Le Minor L, Veron M** : Le monde bactérien In *Bactériologie médicale*, 1989, p:1-140.

[92] **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.

[93] **Levacher S, Baud M, Gorce P, Germain JL, Pourriat JL** : Particularités microbiologiques des infections du site opératoire, hospitalisées en réanimation. Communications affichées. R 350 infectiologie 2002.

[94] **Levi et al** : Détection génotypique de la résistance aux antibiotiques ; *J.Clin . Microbiol* 2003

[95] **Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND** : Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev* 2009 ; 22 : 582-610

[96] **Liu, P. V** : Extracellular toxins of *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of Infectious Diseases*, 130 Suppl(0), S94-9. 1974.

[97] **Livermore DM, Struelens M, Amorim J, Baquero F, Bille J, Canton R, et al. (2002)** : Multicentre evaluation of the Vitek 2 Advanced Expert System for interpretive reading of antimicrobial resistance tests. *J Antimicrob Chemother* 2002 ; 49:289-300.

[98] **Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford** : CTX-M : changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:165-74 .

[99] **Lolans K, Bush K, et al** : First nosocomial outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* producing an integron-borne metallo-beta-lactamase (VIM-2) in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* ; 49 : 3538-40,2005.

[100] **Lotthe A, Reboul F, Mouchère C, Caralp A** : guide pratique de la maîtrise des bactéries multiresistantes aux antibiotiques page 1 sur 27 , inter clin des hauts cantons de l'hérault 2009

[101] **Lucet J.C** : Lutte contre les bactéries multi résistantes. *La revue du praticien* 1998, 48 ; 1541-1546



[102] **Mainardi JL, Villet R, Bugg TD, et al** : Evolution of peptidoglycan biosynthesis under the selective pressure of antibiotics in Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2008 ; 32 : 386-408.

[103] **Mammeri H** : Les antibiotiques. – L3 médecine AMIENS 2012/2013 – S5 UE1 –; cours de microbiologie ; 2013.

[104] **Manuel Guzmán-Blanco, Jaime A. Labarcab, Maria Virginia Villegasc, Eduardo Gotuzzo** : Extended spectrum β -lactamase producers among nosocomial Enterobacteriaceae in Latin America. *Braz j infect d i s*; 2014.

[105] **Marrakchi CH** : Infections à Acinetobacter. *Rev Tun Infectiol.* 2(2) : 2830,2008.

[106] **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,Critical Care* 20 10 , 14: R 113.

[107] **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 2001 to 2002. *J Clin Microbiol* 2006 ; 44 : 3318-3324.

[108] **Mumtaz A K** : Bacterial Spectrum and Susceptibility patterns of Pathogens in ICU and IMCU of a Secondary Care Hospital in Kingdom of Saudi Arabia. *International Journal of Pathology* ; 2012 ; 10(2): 64-70 64.

[109] **Muylaert A., Mainil J.g.***Ann. Méd. Vét* : Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét.*, 2012, 156, 109- 123, 2012 .



[110] **Nordmann P, Cuzon G** : The real threat of carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis* 2009;9:228-236. 29.



[111] **Obritsch MD, Fish DN, MacLaren R, Jung R** : National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from intensive care unit patients from 1993 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 ; 48 : 4606-10.

[112] **Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H** : Secrets of success of a human pathogen : molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect Dis* 2002 ; 180-9.



[113] **Paterson DL** : Bonomo RA. Extended-spectrum betalactamases : a clinical update. *Clin Microbiol Rev* :18(4) :657-86, 2005.

[114] **Peleg AY, Seifert H** : *Acinetobacter baumannii* : emergence of a successful pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2008, 21 (3), pp.538-582.

[115] **Pfaller MA et al** : Augmentation des BLSE ; **CID 2006 ; 42 : S153-63.**

[116] **Philippon A, Labia R, Jacoby G** : Extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989 ; 33 : 1131-1136.

[117] **Picao RC, Andrade SS, Nicoletti AG, et al** : Metallo- β -lactamase detection: comparative evaluation of double-disk synergy versus combined disk tests for IMP, GIM, SIM, SPM, or VIM producing organisms. *Clin Microbiol.* 2008 ; 46:2028–2037.

[118] **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.

[119] **Podgalajen I** : Livre « AntibioGramme », résistance bactérienne 2006.

[120] **Prod'hom G, Bille J. (2006)** : Diagnostic bactériologique rapide : méthode conventionnelle aux méthodes moléculaires modernes 2006.



[121] **Rabaud.C, Lozniewski et A.Nancy** : Resistance bacterienne aux ATB : juillet 2010 infections associées aux soins.

[122] **Rahal JJ** : Novel antibiotic combinations against infections with almost completely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis* 2006 ; 43 : S95-9.

[123] **Rahal K, Benslimani A et al** ; Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale 6ème édition 2011.

[124] **Rahal K** : livre « les antibiotiques », 2013 .

[125] **Rahal K, Benslimani A et al** ; Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale 7ème édition 2014.

[126] **Ramdani N, Bouguessa, Belouni R, Sghier, Benslimani A** : Manuel de Microbiologie, chapitre 9 page 92 ; 2009.

[127] **Ramoul A., Hammami S., Dekhil M., Aimiri S. et al** : Phenotypic and genotypic characterization of clinical multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* from Algerian intensive care units. *African Journal of Microbiology Research* Volume 7(10), pp. 868-874

[128] **Reimer LG., Wilson ML. and Wernstein MP** : Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin. Microbiol. Rev.* 10: 445-465. 122, 1997.

[129] **Robinson DA, Enright MC** : Evolutionary models of the emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003 ; 47:3926-34.

[130] **Roux V, Rolain J M** : Identification des bactéries par biologie moléculaire, EMC maladies infectieuses 11(1) ; 11-1, Article (8000-1-10) 2014.

[131] **Ruppé E** : Epidemiology of expanded-spectrum beta-lactamases : the rise of CTX-M. *Antibiotique* ; 12 : 3-16 , 2010.



[132] **Salam I H** : Les entérobactéries productrices des bêta-lactamases à spectre élargi ,Thèse pour l'obtention de Doctorat en pharmacie, faculté de Rabat ; 2014.

[133] **Scheftel J.M, Weber M et le Groupe**

Français «USI» : Résistance à 16 antibiotiques de 3876 bacilles à Gram négatif aérobies isolés dans 39 centres de soins intensifs en France (1991). *Méd Mal Infect.* 24 : 255-62. 1994 .

[134] **Schordert.M** : Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques, édition, Pages : 655.661.675.691, 1989.

[135] **Shorr AF** : Review of studies of the impact on Gram-negative bacterial resistance on outcomes in the intensive care unit. *Crit Care Med*; 37: 1463-9. 2009.

[136] **Singh et Barrett** : Empirical antibacterial drug discovery - foundation in natural products. *Biochem. Pharmacol.* 71: 1006-1015

[137] **Souli M, Flora V, Koratzanis E, Antoniadou A, Giannitsioti E, Evangelopoulou P, Kannavaki S, Giamarellou H. (2006)** : In vitro Activity of Tigecycline against Multiple-Drug-Resistant, Including Pan-Resistant, Gram-Negative and Gram-Positive Clinical Isolates from Greek Hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*, September 2006; 50 (9): 3166-3169.

[138] **Spanu T. (2006)** : Evaluation of the New VITEK 2 Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Test for Rapid Detection of ESBL Production in Enterobacteriaceae Isolates. *J Clin Microbiol*, Vol. 44, No. 9; Sept. 2006, p. 3257-3262.

[139] **Stover, G. B., Drake, D. (1983)** : Virulence of different *Pseudomonas* species in a burned mouse model : tissue colonization by *Pseudomonas cepacia*. *Infection and Immunity*, 41(3), 1099-1104, 1983.



[140] **Tali Maamar H** : Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques, expérience algérienne ; AARN , 2011.

[141] **Turner P.J** : MYSTIC Europe 2007 : activity of meropenem and other broad-spectrum agents against nosocomial isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009 ; 63 : 217-222. (2009)



[142] **Valverde A, Sanchez-Moreno MP. (2004)** : Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended spectrum beta-lactamases producing

Enterobacteriaceae during nonoutbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol* ;42(10) :4769-75 , 2004 .

[143] **Vaux S et al, (2011)** : signalements des infections nosocomiales à *A.baumannii* résistant à l'imipénème France Aout 2001- Mai 2011. *Bulle epidemiol hebdo*, 2012.31-32 : p 355-360

[144] **Vila J, Ruiz J, Jimenez de Anta T. (1995)** : Mutation in the *gyr A* gene of quinolone-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995 ; 39 : 1201-1203 .

[145] **Villalobos H, Rodriguez-Struelens MJ. (2006)** : Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation* 2006;15:205–213.

[146] **Vildé J L et Nauciel C** : Bactériologie Médicale. Page136 ; 2005.

[147] **Vincent Jarlier et al** : Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France. Réseau BMR-Raisin Résultats 2014.

[148] **VodovaD et al** : EBLSE : epidimio facteurs de risque et mesures de prevention ,le revue de medecine interne 34(2013) 687-673 .



[149] **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 in North India. *braz j infect dis*. 2014; 1 8(3):245–251.

[150] **Wendt C, Dietze B, Dietz E, et al** : Survival of *Acinetobacter baumannii* on drysurfaces. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, 35 (6), pp.1394-1397.



[151] **YALA.D, MERAD A S, MOHAMEDI D, OUAR KORICH M N** : Classification et mode d'action des antibiotiques. *medecine de maghreb* 2001



[152] **Zahar J R, Mamzer M F,Kouatchet A** : L'isolement en réanimation : intérêts, limites, perspectives ;*Réanimation* 21:S494-S502 DOI 10.1007/s13546-011-0425-x ;2012.

[153] **Zegmout A** : Les infections à bactéries multirésistantes en réanimation : incidence, facteurs de risque et facteurs pronostiques. Thèse en vue de l'obtention de doctorat médecine, Université de Rabat ; 2008, n°206

[154] **Zhanel GG, Decorby M, Nichol KA, Baudry PJ, Karlowsky JA, Lagace-Wiens PR, et al** : Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant enterococci and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in intensive care units in Canada: results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study (2005-2006). *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2008 ; 19 : 243-249

[155] **Zouagui S, Bekkhoucha S N et al** : Situation des SARM dans l'ouest Algérien le 28 Mai 2015. 8ème Journée National d'Hygiène Hospitalièreet de lutte contre les infections associées aux soins.

2. WEBOGRAPHIE [156] [http://batna-](http://batna-biologie.boomwork.com/t454-les-procaryotes)

[biologie.boomwork.com/t454-les-procaryotes](http://batna-biologie.boomwork.com/t454-les-procaryotes)

[157] <http://microbiologybook.org/French%20Bacteriology/bact4.html>

[158] <http://www.techno-science.net/?onglet=glossaire&definition=1030>

[159] <http://microbiologybook.org/French%20Bacteriology/bact4>

[160] <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf>

[161] <http://www.biochem.umd.edu/biochem/ka hn/bchm465-01/ribosome/>

[162] http://adn.wikibis.com/acide_ribonucleique.php

[163] <https://saintesante.com/recherches/decouverte-des-antibiotiques.html>

[164] <https://www.didierpol.net/1antibio.html>

[165] <http://www.sba-medecine.com/t475-classification-des-atb-antibiotiques-selon-leur-mode-d-action> (SBA-MEDECINE.com)

[166] <http://mutationgenetique.emonsite.com/pages/les-antibiotiques.html>

[167] <http://www.123bio.net/cours/antibio/colistine.html>

[168] http://www.academia.edu/9886994/1_22_2014_1_CLASSIFICATION_DES_ANTIBIOTIQUES_I-INTRODUCTION

[169] <https://www.vidal.fr/substances/22846/daptomycine/>

[170] <https://www.pourquoidocteur.fr/Articles/Question-d-actu/8591-Antibiotiques-les-Francais-4emes-plus-gros-consommateurs-d-Europe>

[171] <http://lesantibiotiques.emonsite.com/pages/la-resistance-des-bacteries/iii-1-la-resistance-naturelle-des-bacteries.html>

[172] <http://www.medecine.ups-lse.fr/pcem2/bacteriologie/atb%20action%202009>

[173] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs/antibiotic-resistance/fr/>

Résistance aux antibiotiques organisation mondiale de santé 2016

[174] <http://indianexpress.com/article/technology/science/nasa-to-send-superbug-to-space-to-help-understand-its-mutation-to-resist-antibiotics-4532931/>

[175] <http://www.microbes-edu.org/etudiant/staph.html>

[176] https://www.nature.com/search?journal=nrrheum&q=staphylococcus%20aureus&q_match=all&sp-a=sp1001702d&sp-m=0&sp-p-1=phrase&sp-sfvl-field=subject%7Cujournal&sp-x-1=ujournal&submit=go

[177] <http://lesantibiotiques.emonsite.com/pages/la-resistance-des-bacteries/iii-1-la-resistance-naturelle-des-bacteries.html>

[178] https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2010/10/medsci20102611p943/medsci20102611p943.html

[179] <http://www.acmeeau.org/photo/art/default/452622-555243.jpg?v=1289425330>

[180] <https://sites.google.com/site/biologieetmedecine/home/les-enterobacteries-l-essentiel-3>

[181] <http://www.france-sante.org/info-fievre+typhoide+maladie+infectieuse+salmonella+salmonella+typhi+enterobacteriaceae+salmonella+enterica+typhi+bacille+deberth-A01.0-sante.php>

[182] http://www.jle.com/fr/revues/abc/e-docs/les_beta_lactamases_a_spectre_etendu_le_defi_saccentue_292315/article.phtml?tab=texte

[183] https://images.search.yahoo.com/yhs/search;_ylt=A0LEViTf4SZZynoAvbgPxQt.?p=pseudomonas+aeruginosa&fr=yhs-blp-default&fr2=piv-web&hspart=blp&hsimp=yhs-default&type=ds_104_674_0#id=7&iurl=https%3A%2F%2Fs-media-cache-ak0.pinimg.com%2F736x%2F84%2F4f%2F5a%2F844f5a9808d6d223b742bc39a408c54b.jpg&action=click

[184] <http://docplayer.fr/10908260-Mesures-de-prevention-et-de-contrôle-de-la-transmission-des-bacilles-gram-négatif-multirésistants-dans-les-milieux-de-soins-aigus-au-québec.html>

[185] <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/pseudomonas-spp-fra.php>

[186] <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/resistlacta/POLY.Chp.14.html>

[187] https://images.search.yahoo.com/yhs/search;_ylt=AwrB8pCr3iZZyRwAuAg2nIlQ?p=ac%3A%2F%2Fnitobacter+baumannii&ei=UTF-8&type=ds_104_674_0&fr=yhs-blp-default&hsimp=yhs-default&hspart=blp&imgsz=medium&fr2=p%3A%2F%2Fcv%3Ai#id=0&iurl=https%3A%2F%2Fcflickr.com%2F2%2F1107%2F1467496135_889528066d.jpg&action=click

[188] <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Infections-associees-aux-soins/Surveillance-des-infections-associees-aux-soins-IAS/Acinetobacter-resistant-a-l-imipeneme>

[189] www.invs.santé.fr/fiche_aeruginosa_web.pdf

[190] http://nosobase.chu-lyon.fr/Nosotheme/acinetobacter/nosotheme_acinetobacter.html

[191] <https://www.infirmiers.com/etudiants-en-ifsu/cours/cours-infectieux-le-risque-dinfections-nosocomiales-en-reanimation.html>

[192] http://www.adiph.org/site_content/635-hygiene-infections-nosocomiales/3668-recommandations-pour-la-mise-en-oeuvre-d-un-tableau-de-bord-de-la-lutte-contre-les-infections-nosocomiales-au-niveau-de-chaque-etablissement-de-sante-francais-rapport-de-l-invs-publie-le-16-mars-2004

[193] <http://www.medicaexpo.fr/prod/bdproduit-71022-447756.html>

[194] http://www.biomerieux.ch/servlet/srt/bio/switzerland/dynPage?lang=fr_ch&doc=SWT_IND_FDA_PRD_G_PRD_NDY_4

[195] http://nosobase.chu-lyon.fr/Nosotheme/acinetobacter/nosotheme_acinetobacter.html

[196] <http://www.hug-ge.ch/procedures-de-soins/prelevement-durine>

[197] <http://www.ch-pau.fr/Labo/Niveau1/Niveau2/Liens-guide-microbio/prelevement-urines.pdf>

[198] <http://www.birac.net/ftlpo/infectrespi/prelevbio.htm>

[199] <http://www.polemarzet.fr/laboratoire/cmi.php>

[200] <http://slideplayer.fr/slide/4027488/>

[201]<http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/photo2detail.php?id=92#>

[203]<http://slideplayer.fr/slide/481387/>

[202]<http://jcm.asm.org/content/42/12/5881/F1.expansion.html>

LISTE DES ANNEXES

| | |
|--|---------------|
| Annexe I : La composition des enveloppes des bactéries Gram à (+) et Gram à (-)..... | XXIX |
| AnnexeII : Représentation simplifiée du peptidoglycane..... | XXIX |
| Annexe III : Sites d'action des antibiotiques lors de la synthèse de la paroi..... | XXX |
| Annexe IV : Listes des ATB avec leurs spectres d'action | XXXI |
| Annexe V : Mécanismes de la résistance bactérienne aux ATB..... | XXXIII |
| Annexe VI : Les principales espèces d'entérobactéries impliquées dans les pathologies humaines..... | XXXIV |
| Annexe VII : Caractères biochimiques des entérobactéries..... | XXXIV |
| Annexe VIII : Fiches techniques..... | XXXV |

ANNEXES

Annexe I

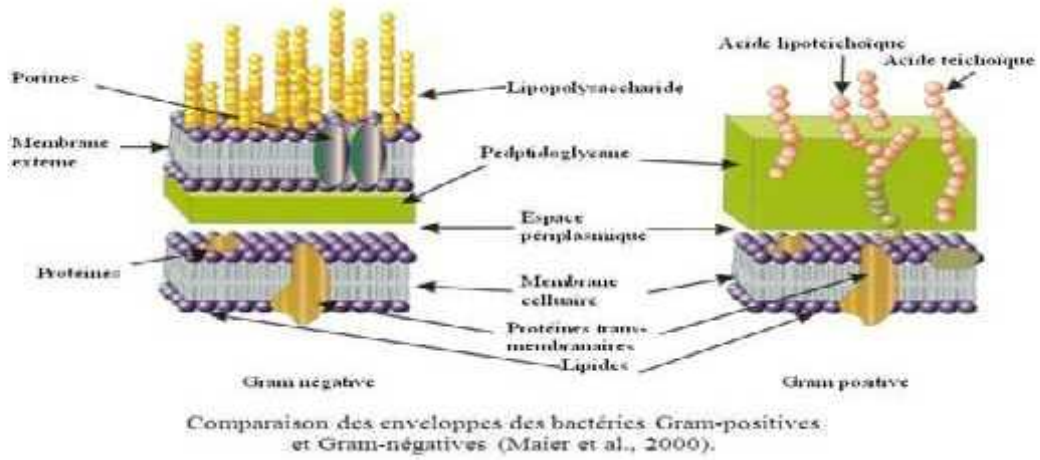


Figure 37 : La composition des enveloppes des bactéries Gram à (+) et Gram à (-)

Annexe II

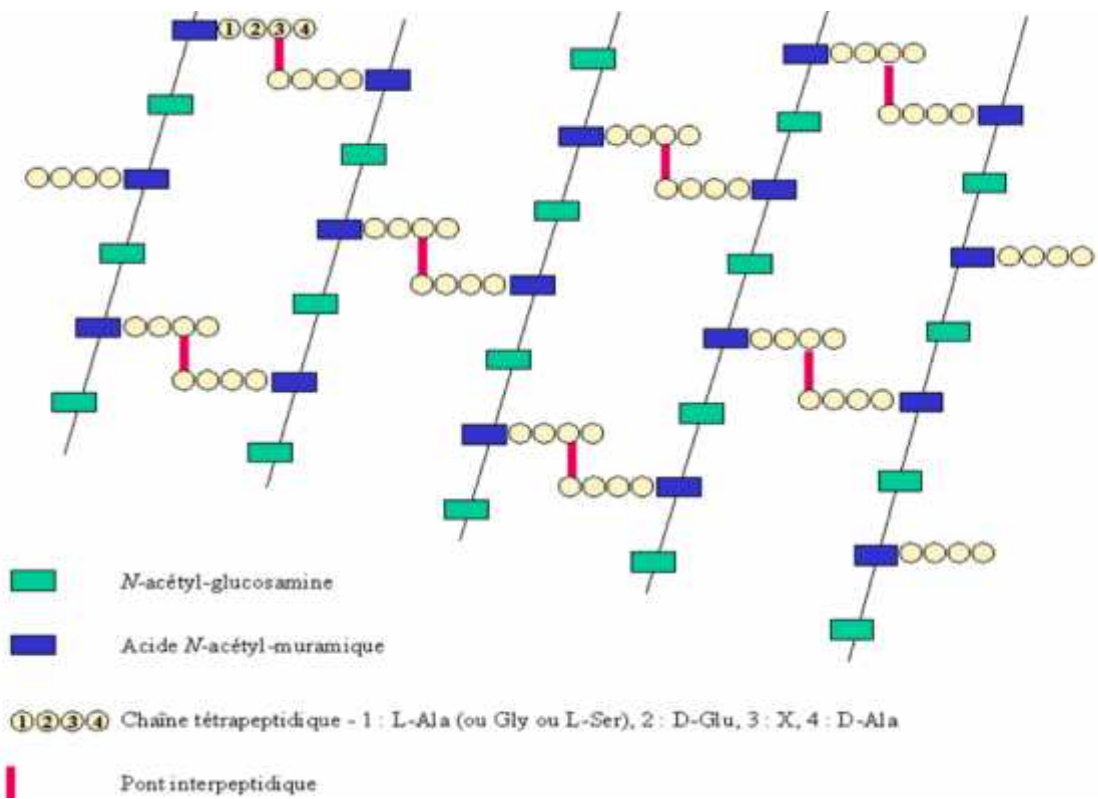


Figure 38 : Représentation simplifiée du peptidoglycane (EDDAYAB.Y 2012).

Annexe III

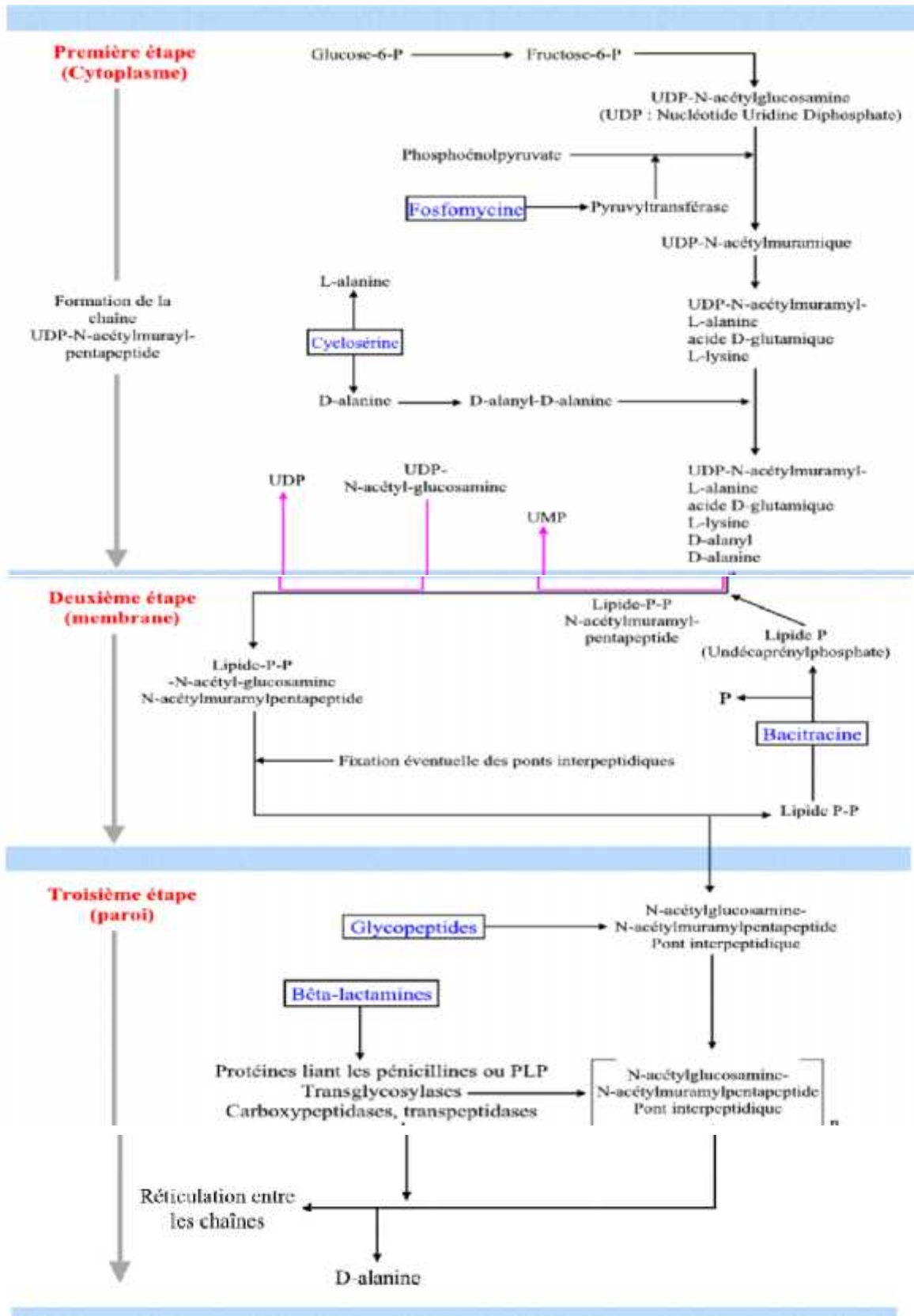


Figure 39 : Sites d'action des antibiotiques lors de la synthèse de la paroi (EDDAYAB.Y 2012).

Annexe IV

Tableau 18 : Listes des ATB avec leurs spectres d'action (RAHAL.K 2013).

| Familles | Antibiotiques (DCI) | Spectre d'activité |
|---|---|---|
| Glycopeptides | -Vancomycine -Teicoplanine | -Bactéries à Gram (+) essentiellement les multirésistantes : SARM, Entérocoques et Pneumocoque résistants aux pénicillines |
| Non classé | Fosfomycine | - <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Streptococcus pneumoniae</i> -Entérobactéries sauf <i>Morganella morganii</i> . - <i>N.meningitidis</i> , <i>Pasteurella</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Polymixines | - Polymixine B - Polymixine E ou colistine | - Bacilles à Gram (-) sauf : <i>Proteus</i> , <i>Providentia</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Morganella morganii</i> et <i>Edwardsiella tarda</i> - Les bactéries à Gram (+) et les mycobactéries sont naturellement résistantes |
| Lipopeptides cycliques | Daptomycine | -Bactéries à Gram (+) |
| Aminosides Les aminosides sont souvent utilisés en association avec d'autres antibiotiques (-lactamines) | -Streptomycine, dihydrostreptomycine -Néomycine, Paromomycine Framycétine (voie locale). -Kanamycine, Tobramycine Dibékacine, Amikacine -Gentamicine, Sisomycine, Nétilmicine | - Cocci et bacilles à Gram (+). - Cocci et bacilles à Gram (-), - Mycobactéries (streptomycine, kanamycine). Les anaérobies et les streptocoques sont résistants |
| | - Spectinomycine | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> |
| Macrolides Lincosamides-Streptogramines (MLS) | Macrolides vrais : -14 atomes : Erythromycine, Oléandomycine, Roxithromycine, Clarithromycine, Dirithromycine -15 atomes :Azithromycine - -16 atomes: Josamycine, Spiramycine, Midécamycine | -Cocci à Gram (+) : SARM (-) et Streptocoque -Cocci à Gram (-) : <i>Neisseria</i> , Moraxelles -Bacilles à Gram (+) : <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Bacillus</i> -Certains bacilles à Gram (-) : <i>Campylobacter</i> - <i>Helicobacter</i> - <i>Legionella</i> |

| | | |
|-------------------------|---|---|
| | | -Certains anaérobies : <i>Eubacterium</i> , <i>Propionibacterium</i> -Autres bactéries : <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia</i> , <i>Borrelia</i> |
| | Lincosamides : -Lincomycine, Clindamycine | - Staphylocoque, Streptocoque. Les lincosamides sont inactifs sur les entérocoques. |
| | Streptogramines : Pristinamycine, Virginiamycine Quinupristine, Dalfoprystine | Staphylocoque et autres Cocci à Gram (+) |
| Cyclines | -Oxytetracycline, Chlortetracycline. -Doxycycline, Minocycline -Glycylcyclines | -Bactéries à multiplication intracellulaire : <i>Chlamydia</i> , <i>Brucella</i> , <i>Rickettsia</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Borrelia</i> , <i>Leptospira</i> , <i>Pasteurella</i> ... -Bactéries à Gram (+) et (-) : <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Francisella tularensis</i> , <i>Yersinia pestis</i> |
| ATB non classé | Acide fusidique | Bactéries à Gram (+), surtout utilisé comme anti staphylococcique. |
| Phénicolés | -Chloramphénicol -Thiamphénicol | Bactéries à Gram (+) et (-) En Algérie ils sont réservés au traitement de la fièvre typho et paratyphoïdique |
| Oxazolidinones | - Linézolide | Bactéries à Gram (+) résistantes aux traitements habituels y compris les multi résistantes. |
| Quinolones | Acide nalidixique, Acide pipémidique, Acide oxolinique, Fluméquine | Entérobactéries Les Gram (+) sont résistantes |
| Fluoroquinolones | - Péfloxacin, Ofloxacin Norfloxacin, Ciprofloxacin | Entérobactéries et Staphylocoques |
| | Lévofloxacin, Moxifloxacin Sparfloxacin, Gatifloxacin | Staphylocoques, Streptocoques, Pneumocoques, bacilles à Gram (+)(sauf <i>Bacillus</i>) |
| Rifamycines | Rifamycine, Rifamycine SV | -Mycobactéries -Bactéries à Gram (+) à développement cellulaire. --Divers bacilles à Gram (-) dont <i>Brucella</i> |
| Sulfamides | Sulfapyridine, Sulfafurazole Sulfaméthoxydiazine Sulfaméthoxyypyridazine | Bactéries à Gram (-), mais il existe beaucoup de résistances vis à vis de |

| | | |
|----------------------------------|---|--|
| | Sulfaméthoxazole Sulfaméthizole Sulfaguanidine | ces antibiotiques. |
| 2-4 Diaminoptéridine | Trimethoprim | Il est utilisé en association avec les sulfamides (voir Sulfamides + Trimethoprim |
| Sulfamides + Trimethoprim | Sulfaméthoxazole Trimethoprim (Cotrimoxazole) | + Bactéries à Gram (+) et (-) mais il existe beaucoup de résistances vis à vis de ces antibiotiques. |

Annexe V

Mécanismes de résistance à l'antibiotique

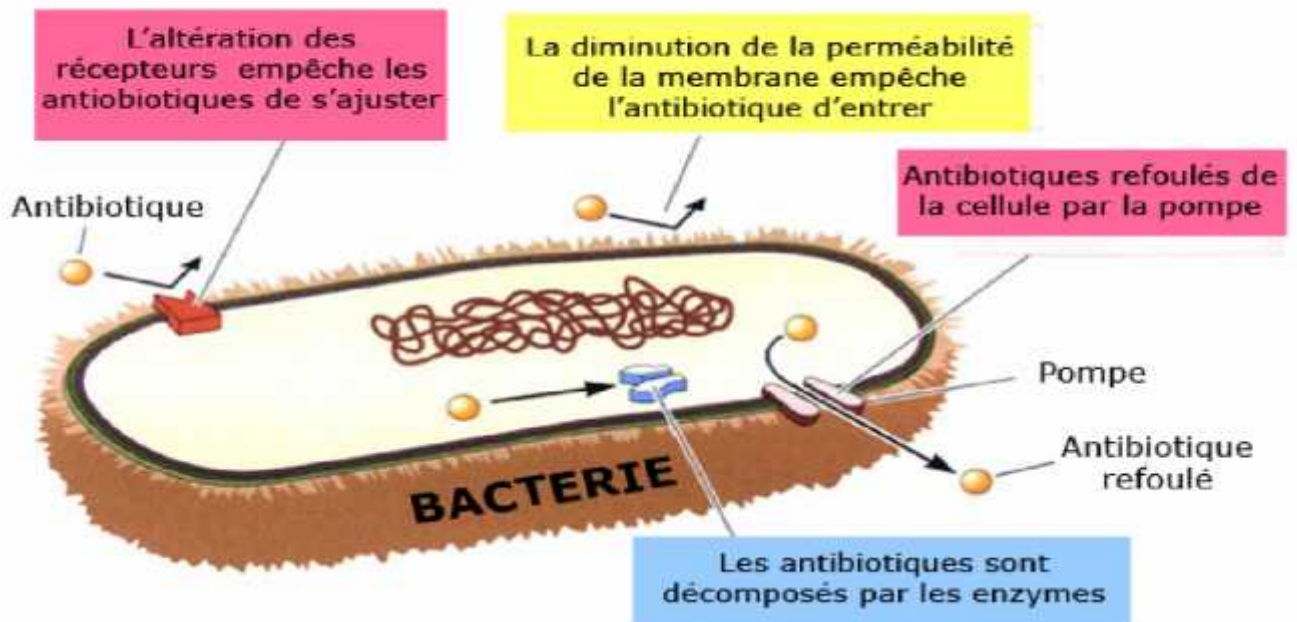


Figure 40 : Mécanismes de la résistance bactérienne aux ATB (KHIEV.B et VEBER.B 2010)

Annexe VI

| GENRE | ESPECES |
|---------------------|---|
| Escherichia | E. coli |
| Shigella | S. dysenteriae, S. sonnei, S. boydii, S. flexneri |
| Salmonella | S. typhi, paratyphi A, B, C..... > 2000 sérotypes |
| Klebsiella | K. pneumoniae, K. oxytoca..... |
| Enterobacter | E. cloacae, E. aerogenes..... |
| Serratia | S. marcescens..... |
| Proteus | P. mirabilis, P. vulgaris |
| Providentia | P. rettgerii, P. stuartii |
| Morganella | M. morganii |
| Citrobacter | C. freundii..... |
| Hafnia | H. alvei |
| Yersinia | Y. pestis, Y. enterocolitica, Y. pseudotuberculosis |

Figure 41 : Les principales espèces d'entérobactéries impliquées dans les pathologies humaines. (FAUCHERE.J-L, AVRIL.J-L 2002)

Annexe VII

Tableau 19 : Caractères biochimiques des entérobactéries.

| Genres Caractères biochimiques | <i>E. coli</i> | <i>Salmonella</i> | <i>Shigella</i> | <i>Klebsiella</i> | <i>Proteus</i> | <i>Enterobacter</i> | <i>Serratia</i> | <i>Yersinia</i> | <i>Citrobacter</i> | <i>Providencia</i> |
|--------------------------------------|----------------|-------------------|-----------------|-------------------|----------------|---------------------|-----------------|-----------------|--------------------|--------------------|
| ONPG | + | - | - | + | - | + | + | + | + | - |
| VP | - | - | - | + | - | + | + | - | - | - |
| RM | + | + | + | - | + | - | - | + | + | + |
| Citrate | - | +/- | - | + | +/- | + | + | - | + | + |
| Indole | + | - | +/- | +/- | +/- | - | - | +/- | +/- | + |
| Uréase | - | - | - | + | + | - | - | + | - | +/- |
| Lactose | + | - | - | + | - | + | +/- | - | +/- | - |
| Gaz | + | +/- | - | + | + | + | +/- | - | + | +/- |
| H ₂ S | - | +/- | - | - | +/- | - | - | - | +/- | - |
| LDC | + | +/- | - | +/- | - | +/- | +/- | - | - | +/- |
| ODC | + | + | +/- | - | +/- | + | +/- | +/- | + | +/- |
| TDA | - | - | - | - | + | - | - | - | - | + |

+ : positif - : négatif +/- : variable selon les espèces

Annexe VIII

Fiches techniques

Examen à l'état frais

Principe :

C'est une méthode rapide qui permet d'observer entre lame et lamelle les bactéries vivantes mobiles et immobiles, les différentes structures cellulaires de la réaction inflammatoire (les leucocytes), les hématies, les cellules épithéliales et les levures.

Technique :

- Humidifier l'écouvillon avec une goutte d'eau physiologique pour faciliter l'étalement sur la lame
- Déposer une goutte de prélèvement sur une lame propre et stérile.
- Recouvrir la goutte par une lamelle en partant d'une position inclinée de 45°

Lecture : observation à l'objectif $\times 40$ (**G $\times 40$**)

- Visualisation des bactéries et leurs mobilité, avec approche de leur mode de regroupement.
- La présence des éléments cellulaires qui indique la réaction inflammatoire (les leucocytes), les hématies, les cellules épithéliales et les levures.

Examen après coloration au bleu de méthylène

Principe :

Dans certains cas où nous observons des globules blancs à l'état frais, nous faisons appel à la coloration au bleu de méthylène pour déterminer l'équilibre leucocytaire, afin de distinguer le type de l'infection (bactérienne ou virale).

C'est une coloration très simple qui permet non seulement la détermination de l'équilibre leucocytaire, mais aussi l'observation des bactéries, des champignons

Technique :

- Réaliser un frottis, le fixer et le sécher.
- Recouvrir par le bleu de méthylène
- Laisser agir 10 minutes.
- Laver à l'eau du robinet, puis sécher entre deux feuilles du papier buvard.

Lecture :

- Examiner à l'objectif $\times 100$ (**G $\times 100$**) à immersion (avec une goutte d'huile).

Coloration de Gram

Principe :

C'est la coloration de référence en bactériologie. La coloration de Gram met en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, ce qui permet de classer les bactéries selon leur morphologie (cocci, bacilles) et leur propriété tinctoriale, ce qui est d'un grand intérêt diagnostique.

Technique :

Elle est réalisée selon les étapes suivantes :

- Préparation du frottis :
 - Déposer une goutte d'eau sur une lame.
 - Prélever un fragment de colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée.
 - Dissocier soigneusement le fragment de colonie dans la goutte d'eau physiologique.
 - Sécher rapidement en passant la préparation au-dessus de la flamme d'un bec bunsen.
- 1^{ère} coloration par le violet de gentiane. Laisser agir pendant 01 minute.
- Fixation au lugol (solution d'iode-iodurée) : étalez le lugol et laisser agir le même temps que le violet de gentiane ; rincer à l'eau déminéralisée.
- Décoloration (rapide) à l'alcool 95° : verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement, et surveillez la décoloration qui doit être rapide. Rincer abondamment avec de l'eau déminéralisée.
- Recoloration à la fuchsine diluée. Laisser agir pendant 01 minute.
- Laver doucement à l'eau déminéralisée.
- Séchez la lame.

Lecture : Observez avec une goutte d'huile à immersion à l'objectif × 100 (G × 100)

Si les bactéries ont une paroi pauvre en peptidoglycanes, perméable à l'alcool, elles seront colorées en rose par la fuchsine (bactéries à Gram négatif). En cas de paroi riche en peptidoglycanes, elles resteront colorées en violet (bactéries à Gram positif).

Test de la catalase

Principe :

La catalase est une enzyme du système respiratoire présente chez la plupart des bactéries aérobies ou anaérobie ayant un métabolisme oxydatif. Elle empêche l'accumulation de l'eau oxygénée toxique apparaissant au court de certaines réactions métaboliques, selon la réaction suivante :



La recherche de la catalase est un test fondamental pour orienter l'identification des CGP.

Technique :

- Sur une lame propre et sèche, déposer une goutte d'eau oxygénée.
- A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien.
- Observer immédiatement.

Lecture :

- Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : **catalase (+)**
- Pas de bulles : **catalase (-)**

Test de l'oxydase

Principe :

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries, à partir de leur culture en milieu gélosé.

Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N-diméthylparaphénylène diamine. Ce réactif est incolore, mais en présence de l'enzyme, il libère un composé rose violacé, noircissant à l'air.

La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour orienter l'identification des BGN. Elle permet de différencier les entérobactéries qui sont oxydase négative des autres BGN oxydatifs qui sont oxydase positive (*Pseudomonas*).

Technique :

- Sur une lame propre et sèche, déposer le disque d'oxydase imbibé d'eau physiologique.
- Prendre une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur, la déposer sur le disque.

Lecture :

- Si la couleur de la colonie est rose violacée : **oxydase (+)**
- Si pas de virage de couleur de la colonie : **oxydase (-)**

Utilisation de citrate (source de carbone)

Principe :

Certaines bactéries, sont capables d'assimiler le citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie.

Technique :

Le milieu utilisé est le Citrate de Simmons (phosphate d'ammonium + citrate de sodium + bleu de bromothymol).

- Ensemencer la pente de ce milieu à partir d'une colonie isolée prélevée sur GN en stries longitudinales et parallèles à l'aide d'une pipette Pasteur stérilisée à la flamme.
(En pratique, seule la moitié inférieure est ensemencée, l'autre moitié servira du témoin).
- Incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture :

Lorsque le milieu vire au bleu (modification de pH), la réaction est positive.

Etude de la voie d'attaque des glucides :

Principe :

Les bactéries attaquent les sucres soit par voie oxydative, fermentaire ou les deux voies à la fois.

Technique :

Le milieu utilisé : MEVAG (contient le sucre étudié + rouge de phénol)

- Au début placer les milieux 15 min au bain-Marie. Laisser refroidir.
- Pour chaque souche, ensemencer deux tubes par piqure centrale à partir d'un bouillon.
- Ajouter la vaseline à l'un des deux tubes.
- Incuber à 37°C pendant 18 à 48h

Lecture :

Rouge : **réaction (-)**

Jaune : **réaction (+)**

- Si seule la partie supérieure du tube sans vaseline est acidifiée ; le germe est oxydatif.
- S'il y a acidification des deux tubes ; le germe est fermentaire.
- Si aucun des deux tubes n'est acidifié ; la souche n'utilise pas le sucre employé.

Détermination de la voie fermentaire :

Principe :

La mise en évidence de la voie fermentaire empruntée par un germe est très importante pour son diagnostic. Les deux voies recherchées sont :

- Voie des acides mixtes mise en évidence par le test RM (rouge de méthyle).
- Voie de butylène-glycol mise en évidence par la réaction de VP (Voges Proskauer).

Technique :

- Ensemencer le milieu Clark et Lubs avec la suspension bactérienne à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture :

Après incubation, répartir le milieu dans deux tubes :

- Dans le 1^{er} tube, ajouter 1 à 2 gouttes de rouge de méthyle :
 - Coloration rouge : **RM (+)**
 - Coloration jaune : **RM (-)**
- Dans le 2^{ème} tube on ajoute 0.5 ml de VP1 (soude 4N) puis 0.5 ml de VP2 (solution alcoolique -naphtol). Agiter et laisser le tube en position inclinée pendant 10 min :
 - coloration rouge : **VP (+)**
 - coloration jaune : **VP (-)**

Etude des enzymes intervenant dans la dégradation des sucres (recherche de la β -galactosidase = test de l'ONPG) :

Principe :

L'enzyme la plus couramment rechercher est la β -galactosidase, responsable de la dégradation du lactose. Les bactéries ayant cette enzyme dégradent un galactoside artificiel : Ortho-nitrophényl-pyrano galactoside (ONPG) en libérant l'ortho-nitrophénol qui colore le milieu en jaune.

Technique :

- Dans un tube à essai, contenant 0.5 ml de suspension bactérienne dense et pure, ajouter un disque d'ONPG.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture :

- Coloration jaune : **β -galactosidase (+)**
- Pas de coloration : **β -galactosidase (-)**

Milieu Triple-Sugar-Iron (TSI)

Principe :

Le but de ce test est de mettre en évidence cinq caractères, la fermentation de 3 sucres (glucose, lactose, saccharose), la production du gaz et la formation de sulfure d'hydrogène (H₂S).

Technique :

- Un milieu TSI est ensemencé par stries sur la pente et par pique centrale dans le culot.
- Incuber à 37°C pendant 24h. (les tubes ne sont pas fermés à fond pendant l'incubation).

Lecture :

- Culot : - jaune : fermentation du glucose (**glucose+**).
- rouge : **glucose (-)**.
- Pente : - jaune : fermentation du saccharose et/ou du lactose.
- rouge : pas de fermentation du saccharose et du lactose.
- Dégagement de gaz (**gaz +**), pas de bulles d'air (**gaz-**).
- Noircissement de milieu : production de H₂S (**H₂S +**), pas de noircissement (**H₂S-**).

Milieu Mannitol mobilité :

Principe :

C'est un milieu de culture qui permet de déterminer la fermentation du mannitol ainsi que la mobilité de la bactérie à identifier.

Technique :

- L'ensemencement du milieu s'effectue par pique centrale dans une gélose de mannitol-mobilité (contient du mannitol + nitrates + rouge de phénol).
- Incubation à 37°C pendant 18 à 24h.

Lecture :

- Milieu jaune : **Mannitol (+)**.
- Milieu rouge : **Mannitol (-)**.
- Culture le long de la pique seulement : **bactérie immobile**.
- Trouble sur toute la masse : **bactérie mobile**.

Recherche des décarboxylases (ADH, ODC, LDC)

Principe :

Ce test détecte la capacité qu'a une bactérie de produire des décarboxylases et des déshydrogénases, enzymes qui dégradent les acides aminés à savoir l'arginine, la lysine et l'ornithine.

Technique :

Le milieu utilisé : Moeller Falkow (contient l'acide aminé à étudier + glucose + pourpre de bromocrésol. Coloration violette du milieu).

- Ensemencer à partir d'une suspension bactérienne, des milieux contenant les différents acides aminés (arginine, lysine et ornithine), et un témoin, qui ne contient que du glucose.
- Ajouter quelques gouttes d'huile de vaseline stérile (pour l'anaérobiose).
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24h.

Lecture :

- Tube témoin : virage au jaune indique la fermentation du glucose et l'acidification du milieu.

- Tubes tests :

- Milieu coloré en violet : **réaction (+)**. Les bactéries ont acidifié le milieu à partir du glucose, ensuite par décarboxylation de l'acide aminé présent, le milieu est devenu alcalin.

- Milieu jaune : **réaction (-)**. Les bactéries ont seulement fermenté le glucose.

Recherche de l'uréase, tryptophane disaminase (TDA) et tryptophanase (test d'indole)

Principe :

Le milieu utilisé : Milieu de Ferguson qui permet de réaliser 3 tests biochimiques : le test uréase, le test TDA et le test indole.

Technique :

- Prélever un inoculum et l'ensemencer dans le milieu Ferguson.
- Incuber à 37°C pendant 24 h.

Lecture :

- Uréase : - Virage de l'indicateur du jaune orangé au rouge violacé : **Uréase (+)**

- Absence de virage : **Uréase (-)**

- Indole : On ajoute le réactif de Kovacs (4 à 5 gouttes) :

- Apparition d'un anneau rouge en surface : **Indole (+)**

- Pas de formation d'anneau rouge : **Indole (-)**

- TDA : On ajoute 7 à 8 gouttes de réactif TDA (perchlorure de fer)

- Coloration immédiate du milieu en brun : **TDA (+)**

- Coloration jaune clair : **TDA (-)**

Système Api :

Principe :

Elle comporte en général 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisant par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

Technique :

- **Préparation de l'inoculum :** de charge bactérienne bien définie selon la galerie Api utilisé.
- **Préparation de la galerie :** réunir le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation en répartissant environ 5ml d'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, puis déposer la galerie dans la boîte d'incubation.
- **Inoculation de la galerie :** introduire la suspension bactérienne dans le micro-tube de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la même pipette sur le côté de la cupule), en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.

Pour les tests encadrés : remplir les tubes et les cupules

Pour les tests soulignés : remplir les tubes avec l'inoculum, et les cupules avec la vaseline ou l'huile de paraffine.

Pour les autres tests : remplir uniquement les tubes.

- **Incubation des galeries :** refermer la boîte d'incubation et incuber à 36 +/- 2°C pendant 24h.

Lecture et interprétation :

La lecture se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou de logiciel d'identification.

Antibiogramme par diffusion des disques

Principe :

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des ATB et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci

Technique :

Le milieu utilisé est le milieu de Mueller Hinton

- **Préparation de l'inoculum :**
 - A partir d'une culture pure, racler quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
 - Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
 - Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.
- **Ensemencement :**
 - Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
 - L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
 - Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
 - Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- **Application des disques d'antibiotiques :**
 - Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.
 - Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.

La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée, figure dans le tableau n° 19.

Tableau 19 : Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries non exigeantes

| <i>Staphylococcus spp</i> | Entérobactéries | <i>Pseudomonas spp</i> | <i>Acinetobacter spp</i> |
|---|--|---|---|
| Pénicilline (10UI) Oxacilline (1µg) Céfoxitine (30µg) Amikacine (30µg) | Ampicilline* (10µg) Amoxicilline + Acide clavulanique(20/10µg) Céfalotine**** (30µg) Amikacine (30µg) | Ticarcilline (75µg) Ticarcilline + acide clavulanique (75/10µg) Pipéracilline (100µg) Céftazidime (30µg) | Ticarcilline (75µg) Ticarcilline + acide clavulanique (75/10µg) Pipéracilline (100µg) Céftazidime (30µg) |
| Gentamicine (10µg) Kanamycine (30µg) Erythromycine (15µg) | Céfoxitine (30µg) Céfotaxime** (30µg) Imipénème (10µg)/ Méropénème (10µg) | Aztréonam (30µg) Imipénème (10µg) Amikacine (30µg) | Imipénème (10µg) Amikacine (30µg) Gentamicine (10µg) |
| Clindamycine (2µg) | Ertapénème (10µg) | Gentamicine (10µg) | Tobramycine (10µg) |
| Pristinamycine (15µg) | Amikacine (30µg) | Tobramycine (10µg) | Nétilmicine (CMI seulement) |
| Ofloxacine (5µg) | Gentamicine (10µg) | Nétilmicine (30µg) | Ciprofloxacine (5µg) |
| Chloramphénicol (30µg) | Acide nalidixique (30µg) | Ciprofloxacine (5µg) | Lévofloxacine (5µg) |
| Vancomycine (CMI seulement) Teicoplanine (30µg) | Ciprofloxacine (5µg) Colistine (10µg) ***** | Lévofloxacine (5µg) Fosfomycine (50µg) +50µg G6P | Doxycycline*** (30µg) Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg) |
| Rifampicine (5µg) Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg) Tétracycline*** (30µg) | Chloramphénicol (30µg) Furanes (300µg) Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg) | Rifampicine (30µg) Colistine (10µg) | Colistine (CMI seulement) Rifampicine (30µg) |
| Acide fusidique (10µg) | Fosfomycine (200µg) | | |
| Fosfomycine (50µg) | | | |
| Composé vibriostatique O/129***** | | | |

* : réponse d'interprétation valable pour l'amoxicilline

** : réponse d'interprétation valable pour céftriaxone, céfixime, céfoperazone, céfdinir et céfpodoxime

*** : réponse d'interprétation valable pour tétracycline et doxycycline

**** : réponse d'interprétation valable pour céfalexine, céfaclor

***** : antibiotique testé à visée diagnostic.

● **Conditions d'incubation :**

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie (pour *Staphylococcus spp*, *Entérobactéries*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp* :18heures (à prolonger pour OXA et VAN/TEC) 35°C Atmosphère ordinaire).

Lecture :

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Petri fermée.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de Petri ouverte et bien éclairée.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. Classifier la bactérie dans l'une des catégories S (sensible), R (résistante) ou I (intermédiaire).

Contrôle de qualité :

Pour chaque espèce bactérienne testée, un contrôle de qualité est réalisé dans les mêmes conditions de test et d'incubation.

CMI par bandelettes E-test :**Principe :**

Cette technique, utilisant des bandes imprégnées d'un gradient de concentration d'antibiotiques, permet d'obtenir simplement et rapidement une détermination de la CMI, dans les mêmes conditions que l'antibiogramme standard. En routine, elle constitue une alternative acceptable à la méthode de référence.

Technique :

- Inoculum : 0,5 Mc Farland ensemencé selon la technique décrite pour l'antibiogramme standard
- Application des bandelettes : sur la surface de la gélose, à l'aide de pinces bactériologiques stériles.
- Utiliser une bandelette par boîte (90 mm de diamètre)
- Incubation : 18 à 20 heures

Lecture :

- L'interprétation ne pourra se faire que si les résultats de la souche de référence rentrent dans l'intervalle des valeurs critiques données par le CLSI.
- Lire la valeur de la CMI correspondant à l'intersection entre l'ellipse de non culture et la bandelette.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans le tableau récapitulatif des valeurs critiques pour les CMI de la bactérie correspondante.
- Classifier la bactérie dans l'une des catégories : « S » Sensible, « I » Intermédiaire ou « R » Résistant

RESUME

Les infections nosocomiales causées par les bactéries multi résistantes (BMR) constituent un véritable problème de santé publique particulièrement dans les unités des soins intensifs.

L'objectif de notre travail est d'évaluer le taux des BMR et leur implication en pathologie au sein de l'unité de réanimation.

Nous avons mené une étude rétrospective s'étalant sur une période de **02** ans allant du **01/01/2015** au **31/12/2016**. La date du début de l'étude correspond à la date d'inauguration de l'unité de réanimation du service des UMC du CHU Blida.

Ainsi, nous avons recensé **624** prélèvements dont **283 (45,35%)** sont revenus positifs et sur lesquels **443** souches bactériennes étaient isolées. Parmi ces souches, **169** étaient des BMR soit un taux de **38.15%**.

La BMR prédominante est l'*Acinetobacter baumannii* multi-résistant avec un taux de **47.33%** (**80 /169** souches), suivi des Enterobacteries productrices de -lactamases à spectre élargi avec un taux de **33.72%** (**57/169** souches), de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline avec **14.20%** (**24/169** souches) et enfin de *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistant avec **4.73%** (**8/169** souches).

Les BMR proviennent essentiellement des prélèvements distaux protégés avec un taux de **41.4%** (**70/169**).

La surveillance et la lutte contre la multi-résistance bactérienne est nécessaire dans les unités de réanimation.

Mots clés : Réanimation – Infections nosocomiales - Bactéries multi-résistantes - *Acinetobacter baumannii*- Prévention.

العدوى الناجمة عن البكتيريا متعددة المقاومة (BMR) تشكل مشكل حقيقي للصحة العامة لا سيما في وحدات العناية
الهدف من مذكرتنا هو تقييم نسبة (BMR) وتسببها في الأمراض داخل وحدة الإنعاش.

لهذا قمنا بدراسة استرجاعية استغرقت مدة عامين بدءا من 2015/01/01 الى غاية 2016/12/31، تاريخ بدء
الدراسة هو ذاته تاريخ افتتاح وحدة الإنعاش للمستشفى الجامعي بالبلدية. تم إجراء عملية عزل واكتشاف (BMR)
داخل المختبر المركزي في ذات المؤسسة وكل العينات المسحوبة بغية تشخيصها أخذت من مرضى يعا
الوحدة الجديدة.

624 عينة من بينها 283 (45.3%) كانت موجبة، والتي تم عزل 443 سلالة بكتيريا منها. من بين هاته
169 سلالة كانت عبارة عن (BMR) بنسبة مقاومة متعددة تقدر ب 38.15%. (BMR) السائدة هو
الراكدة البومانية متعدد المقاومة بنسبة تقدر ب 47% (169/80) (متبوعا بالمعويات المفترزة للبيتالاكتامازات
الطيف الموسع بنسبة 34% (169/57)). العينة الأغنى بال(BMR) هي السحب البعيد المحمي (PDP).
41.4% (169/70).

البكتيريا متعددة المقاومة ضروري في وحدات الإنعاش.

ية : الإنعاش، بكتيريا متعددة المقاومة، الراكدة البومانية، سحب بعيد محمي، مكافحة.

Abstract

Infections caused by multidrug-resistant bacterium (BMR) are a real public health problem, particularly in intensive care units.

The objective of our work is to evaluate the rate of BMR and their involvement in pathology in the resuscitation unit. We have conducted a retrospective study over a period of two years from **01/01/2015** to **31/12/2016**. The start date of the study corresponds to the date of the resuscitation unit's inauguration in the UMC service (Blida CHU).

So, **624** samples were collected, **283** of them (**45.3%**) returned positive, knowing that **443** bacterial strains were isolated, of these strains **169** were BMR. The multidrug-resistance rate was **38.15%**. The predominant BMR is the multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* with a rate of **47%** (**80/169** strains), followed by the extended spectrum β -lactamase producing enterobacteriaceae with a rate of **34%** (**57/169** strains). The richest BMR sample was the distal protected specimens with a rate of **41.4%** (**70/169**).

The surveillance and the fight against the bacterial multidrug-resistant is required in resuscitation services.

Key words: Resuscitation – Multidrug-resistant bacteria - *Acinetobacter baumannii* - Protected distal specimen - Fight.

ASSEME Bouchra

bouchera09asseme@gmail.com

BOUCEHLA Rahil

rahilboucehla@yahoo.com

RESUME

Les infections nosocomiales causées par les bactéries multi résistantes (BMR) constituent un véritable problème de santé publique particulièrement dans les unités des soins intensifs.

L'objectif de notre travail est d'évaluer le taux des BMR et leur implication en pathologie au sein de l'unité de réanimation.

Nous avons mené une étude rétrospective s'étalant sur une période de **02** ans allant du **01/01/2015** au **31/12/2016**. La date du début de l'étude correspond à la date d'inauguration de l'unité de réanimation du service des UMC du CHU Blida.

Ainsi, nous avons recensé **624** prélèvements dont **283 (45,35%)** sont revenus positifs et sur lesquels **443** souches bactériennes étaient isolées. Parmi ces souches, **169** étaient des BMR soit un taux de **38.15%**.

La BMR prédominante est l'*Acinetobacter baumannii* multi-résistant avec un taux de **47.33%** (**80 /169** souches), suivi des Enterobacteries productrices de -lactamases à spectre élargi avec un taux de **33.72%** (**57/169** souches), de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline avec **14.20%** (**24/169** souches) et enfin de *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistant avec **4.73%** (**8/169** souches).

Les BMR proviennent essentiellement des prélèvements distaux protégés avec un taux de **41.4%** (**70/169**).

La surveillance et la lutte contre la multi-résistance bactérienne est nécessaire dans les unités de réanimation.

Mots clés : Réanimation – Infections nosocomiales - Bactéries multi-résistantes - *Acinetobacter baumannii*- Prévention.

Abstract

Infections caused by multidrug-resistant bacterium (BMR) are a real public health problem, particularly in intensive care units.

The objective of our work is to evaluate the rate of BMR and their involvement in pathology in the resuscitation unit. We have conducted a retrospective study over a period of two years from **01/01/2015** to **31/12/2016**. The start date of the study corresponds to the date of the resuscitation unit's inauguration in the UMC service (Blida CHU).

So, **624** samples were collected, **283** of them (**45.3%**) returned positive, knowing that **443** bacterial strains were isolated, of these strains **169** were BMR. The multidrug-resistance rate was **38.15%**. The predominant BMR is the multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* with a rate of **47%** (**80/169** strains), followed by the extended spectrum -lactamase producing enterobacteriaceae with a rate of **34%** (**57/169** strains). The richest BMR sample was the distal protected specimens with a rate of **41.4%** (**70/169**).

The surveillance and the fight against the bacterial multidrug-resistant is required in resuscitation services.

Key words: Resuscitation – Multidrug-resistant bacteria - *Acinetobacter baumannii* - Protected distal specimen - Fight.