

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.



**Evolution des taux des bactéries multi résistantes et
hautement résistantes émergentes au sein de l'unité de
réanimation polyvalente du service des urgences
médiocoirurgicales du CHU BLIDA**

Thèse d'exercice de fin d'étude
Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie
Session : Juin 2020

Présentée par:

- TAIBI ZOHRA
- BENNILI ZINEB



Remerciements



A Allah

Tout puissant Qui nous a inspiré Qui nous a guidé dans le bon chemin. Nous vous devons ce que nous sommes devenues.

Louanges et remerciements Pour votre clémence et miséricorde

A notre Maître et Rapporteur de thèse BEROUAKEN.S : Maître assistante en microbiologie – USDB

Vous nous avez fait le grand honneur d'accepter de nous diriger dans cette thèse avec bienveillance, votre modestie et vos qualités humaines ainsi que votre compétence et votre savoir-faire représentent pour nous tant de qualités à admirer.

Nous tenons à vous remercier pour le temps que vous nous avez accordé tout au long de la réalisation de ce travail malgré vos engagements, et pour l'ensemble de vos précieux conseils, nous espérons être dignes de la confiance que vous avez placée en nous.

Que ces lignes puissent témoigner de notre grand respect, notre très haute considération et notre profonde reconnaissance.

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;

A notre Maître et Président du jury Dr. ATIF.M. L :

Pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Nous vous sommes très reconnaissantes de la spontanéité et de l'amabilité avec laquelle vous avez accepté de juger notre travail, Veuillez agréer, Docteur, l'expression de notre profond respect.

A Dr.BENAMARA.M :

Qui nous a fait l'honneur de juger, et évaluer notre travail, Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieuses remarques.

Nos vifs remerciements vont également au Pr S. ABDI, la cheffe de service de laboratoire centrale du CHU Blida, qui nous a ouvert les portes du laboratoire.

Nous ne pourrions terminer nos remerciements sans y associer nos enseignants qui ont contribué à notre formation et le personnel du département de pharmacie de la faculté de médecine, Université Saad Dahleb –BLIDA.



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...? Ainsi, c'est tout simplement que,

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux.

A ma mère **Amel** qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau .Ni sacrifices, ni privatisations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ces enfants.

A mon cher papa **Mohamed** qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort

Pour tout cela et encore plus, je vous dois tout ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain.

J'espère que j'ai pu réaliser ce que vous avez toujours voulu de moi. Que dieu le tout puissant vous donne joie et prospérité, santé et surtout qu'il vous garde toujours à nos côtés, Je vous aime mes très chers parents.

Veillez trouver ici, le témoignage de mon amour éternel.

A mes très chères sœurs Ibtissam et Aya et cher frère Said

Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous.

Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais, que dieu vous garde et vous protège que votre chemin soit plein de succès, Je vous aime.

A mon binôme et mon amie Zineb

Pour toutes ces années passées ensemble, tous les moments vécus ensemble, pour ton amitié et pour ton soutien, tu es une personne importante pour moi. Plus qu'une simple amie, une âme-sœur.

A tous les membres de ma famille grands et petits

Merci à tous ceux qui ont cru en moi et m'ont encouragé de près ou de loin, je suis honorée de vous voir fiers de moi. Puissiez-vous trouver dans ces quelques mots l'expression de mon amour et de ma profonde admiration.

A tous mes amis, mes collègues

La vie nous offre chaque jour des cadeaux, des surprises joyeuses, en mettant sur nos chemins des personnes qui pensent à nous, qui cherchent nos nouvelles, qui s'inquiètent à notre absence, et qui nous aiment sans retour..., Moi j'en avais plein de ces jolies cadeaux, j'étais toujours bien entouré, bien soutenu, par et avec vous mes chers amis. Je vous adore et je vous remercie pleinement.

À toutes les personnes malades et qui souffrent :

Nous ne pouvons construire notre propre avenir sans vous aider à construire le vôtre, que dieu nous aide pour vous aider.

Zahra

Je dédie cet humble travail avec grand amour, sincérité et fierté :

A mes très chers parents

Mon cher père **Ameur** : Symbole de sacrifice, de droiture et de la persévérance.

Ma chère maman **Fatiha** : exemple du courage et de la patience.

Aucune dédicace ne saurait exprimer ni la profondeur de mes sentiments ni l'amplitude de ma reconnaissance, Vous m'avez donné la vie, vous avez veillé sur mon éducation et mon bien être, vous m'avez inculqué le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance face aux difficultés de la vie, vous étiez toujours mon refuge qui me prodigue sérénité, amour, tendresse et conseil. Je vous remercie d'avoir soutenu mes choix, d'avoir cru en moi et de m'avoir épaulé et encouragé à aller de l'avant. J'espère que j'ai pu réaliser ce que vous avez toujours voulu de moi. Que dieu le tout puissant vous donne joie et prospérité, santé et surtout qu'il vous garde toujours à nos côtés.

A mes très chères sœurs et chers frères

Bouchra, Ikhlal, Hiba, Slimane, Noureddine et Mohammed Islam

Je vous souhaite la réussite dans votre vie, et d'être comblé de bonheur. Merci d'être toujours présents à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragé. Je vous aime toutes et tous.

A tous les membres de ma famille grands « Bennili et Aggoun »

J'ai une chance inestimable d'être née dans une famille si aimante et si généreuse. Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, et la reconnaissance sincère que j'ai pour vous. Vos encouragements m'ont été d'un grand soutien. En témoignage de mon amour et mon respect je vous dédie cette thèse. Que ce travail traduise toute mon affection et mes souhaits de bonheur, de santé et de longue vie.

A ma copine et mon binôme Zahra

Qui est pour moi une vraie sœur, merci pour toutes ces années passées ensemble, pour les moments inoubliables, merci pour ton amitié et ton soutien.

Une dédicace spéciale à mes chères

Ghania, Fatiha, Zineb, Amel et Maroua : j'étais toujours bien entourée, bien soutenue, par et avec vous mes chères consœurs. Je vous adore et je vous remercie pleinement ...

A ma deuxième famille, mes chères amies et collègues

Je suis fière de faire partie de cette grande famille, je vous remercie pour vos conseils et encouragement, en vous souhaitant un brillant avenir et beaucoup de bonheur.

À toutes les personnes malades et qui souffrent

Que dieu nous aide à apaiser vos souffrances.

Zineb

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES

I.1.LES ANTIBIOTIQUES.....	1
I.1.1.Définition.....	1
I.1.2.Mécanismes d'action des antibiotiques.....	1
I.1.3.Classification.....	1
I.2.LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUE.....	5
I.2.1.Définition.....	5
I.2.2.Types de résistance.....	5
I.2.3.Mécanismes de résistance.....	6
I.2.4.L'étendue de la résistance.....	7
I.2.5.Résistance croisée, Co-résistance et Co-sélection.....	7
CHAPITRE II : LES INFECTIONS EN REANIMATION.....	9
II.1.DEFINITION.....	9
II.2.EPIDEMIOLOGIE.....	9
II.2.1.Facteurs de risque d'acquisition.....	9
II.2.2.Modes de transmission.....	9
II.2.3. Les voies de contamination.....	9
II.3. LES TYPES D'INFECTION EN REANIMATION.....	10
II.3.1.Les pneumonies acquises en réanimation.....	10
II.3.2.Les infections urinaires.....	10
II.3.3.Les infections liées aux dispositifs intravasculaires.....	11
II.3.4.Les infections du site opératoire (ISO).....	11
CHAPITRE III : LES BACTERIESMULTI-RESISTANTES (BMR).....	13
III.1.DEFINITIONS DES BMR	13
III.2.LES PRINCIPALES BMR	13
III.3.STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....	14
III.3.1.Rappel.....	14
III.3.2.Résistance naturelle.....	15
III.3.3.Staphylococcus aureus résistant à la méticilline "SARM".....	15
III.3.3.1.Mécanismes de résistance.....	15
III.3.3.2.Epidémiologie.....	16
III.3.3.3.Méthodes de détection des SARM.....	17
III.3.3.4.Traitement.....	21
III.3.4.Staphylococcus aureus de sensibilité diminuée aux glycopeptides.....	22
III.3.4.1.Définition.....	22
III.3.4.2.Mécanisme de résistance.....	22
III.3.4.3.Epidémiologie	23
III.3.4.4.Méthodes de détection des GISA/VISA.....	24

III.3.4.5.Traitement.....	26
III.4.LES ENTEROBACTERIES	26
III.4.1.Rappel.....	26
III.4.2.Résistance naturelle.....	27
III.4.3.Les Entérobactéries sécrétrices de bêtalactamase à spectre élargi “EBLSE”.....	27
III.4.3.1.Mécanisme de résistance.....	27
III.4.3.2.Epidémiologie.....	28
III.4.3.3.Méthodes de détection.....	30
III.4.4.Les Entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinases ECHN.....	34
III.4.4.1.Mécanisme de résistance.....	34
III.4.4.2.Epidémiologie.....	35
III.4.4.3.Méthodes de détection.....	35
III.4.5.Traitement des Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération	36
III.5.ACINETOBACTER BAUMANNII.....	37
III.5.1.Rappel.....	38
III.5.2.Résistance naturelle.....	38
III.5.3. <i>Acinetobacter baumannii</i> multirésistant (ABMR).....	39
III.5.3.1.Définition.....	39
III.5.3.2.Mécanismes de résistance.....	39
III.5.3.3.Epidémiologie.....	40
III.5.3.4.Méthodes de détection.....	41
III.5.3.5.Traitement des infections à <i>Acinetobacter baumannii</i>	44
III.6.PSEUDOMONAS AERUGINOSA.....	44
III.6.1.Rappel.....	44
III.6.2.Résistance naturelle.....	45
III.6.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirésistant «PAMR».....	45
III.6.3.1.Définition.....	45
III.6.3.2.Mécanisme de résistance.....	46
III.6.3.3.Epidémiologie.....	47
III.6.3.4.Méthodes de détection.....	49
III.6.3.5.Traitement des infections à PAMR.....	52
CHAPITRE IV : LES BACTERIES HAUTEMENT RESISTANTES EMERGENTES (BHRé)...	53
IV.1.DEFINITIONS DES BHRé.....	53
IV.2.LES ENTEROBACTERIES PRODUCTRICES DE CARBAPENEMASES (EPC).....	53
IV.2.1.Mécanismes de résistance des Entérobactéries aux carbapénèmes.....	53
IV.2.2.Epidémiologie.....	55
IV.2.3.Méthodes de détection.....	56
IV.2.4.Traitement.....	59
IV.3.ENTEROOCOQUES RESISTANTS AUX GLYCOPEPTIDE.....	61
IV.3.1.Rappel.....	61
IV.3.2. Mécanisme de résistance des Entérocoques aux glycopeptides.....	62
IV.3.3.Epidémiologie.....	63
IV.3.4.Méthodes de détection.....	65
IV.3.5.Traitement.....	67

CHAPITRE V : PREVENTION DE LA DIFFUSION DES BMR ET DES BHRe.....	69
V.1. LES MESURES PREVENTIVES.....	69
V.1.1. Le dépistage.....	69
V.1.2. Maitrise de la diffusion des BMR et BHRe.....	70
V.1.2.1. Les précautions standard (PS).....	71
V.1.2.2. Les précautions complémentaires.....	71
V.1.2.3. Les mesures spécifiques (search and isolate).....	72
V.1.3. Utilisation rationnelle des antibiotiques.....	73
V.2. RECOMMANDATIONS ET SOLUTIONS APPORTEES PAR L'OMS.....	74
PARTIE PRATIQUE	
CHAPITRE VI : MATERIEL ET METHODES.....	75
VI.1. PRESENTATION DE L'ETUDE.....	75
VI.1.1. Protocole, durée et objectifs de l'étude.....	75
VI.1.2. Critères d'inclusion, d'exclusion et exploitation des données.....	75
VI.2. MATERIEL.....	75
VI.2.1. Matériel non biologique.....	75
VI.2.2. Matériel biologique.....	75
VI.3. METHODES.....	76
VI.3.1. Isolement et identification des souches.....	76
VI.3.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	78
VI.3.3 Caractérisation phénotypiques des mécanismes d'antibiorésistance	78
VI.3.3.1. Recherche de la résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> à la méticilline.....	78
VI.3.3.2. Détection de <i>Staphylococcus aureus</i> de sensibilité diminuée aux glycopeptides	78
VI.3.3.3. Détection de la résistance aux C3G chez les Entérobactéries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter baumannii</i>	79
VI.3.3.4. Détection de la résistance aux carbapénèmes chez les Entérobactéries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter baumannii</i>	80
VI.3.3.5. Recherche de la résistance des Entérocoques aux glycopeptides.....	82
CHAPITRE VII : RESULTATS.....	84
VII.1. RESULTATS DE L'ETUDE DES BMR	84
VII.1.1. Taux de BMR isolées.....	84
VII.1.2. Répartition des BMR isolées selon le type de BMR.....	84
VII.1.3. Répartition des BMR isolées selon le type de BMR.....	85
VII.1.4. Répartition des BMR isolées selon le type de prélèvement.....	85
VII.1.5. Répartition du taux des BMR isolées par année.....	86
VII.1.6. Evolution des taux des BMR isolées entre 2016 et 2019.....	87
VII.1.7. Répartition des ERC3G selon l'espèce.....	87
VII.1.8. Répartition des ERC3G selon la production de la BLSE.....	87
VII.2. RESULTATS DE L'ETUDE DES BHRe	89
VII.2.1. TAUX DE BHRe ISOLEES.....	89
VII.2.2. RESULTATS DE L'ETUDE DES EPC	90
VII.2.2.1. Taux des EPC.....	90
VII.2.2.3. Répartition des Entérobactéries productrices de carbapénémases selon l'espèce.....	91

VII.2.2.4. Résultats de la détermination du type de carbapénémase.....	91
VII.2.3. RESULTATS DE L'ETUDE DES ERG.....	92
VII.2.3.1. Taux des ERG	92
VII.2.3.2. Répartition des Entérocoques résistants aux glycopeptides selon le type de prélèvement et l'espèce.....	92
VII.2.3.3. Evolution du taux des ERG isolées entre 2016 et 2019.....	93
VII.2.4.4. Entérocoques résistants aux glycopeptides et résistances associées.....	93
CHAPITRE VIII : DISCUSSION.....	94
CONCLUSION	
BIBLIOGRAPHIE	
ANNEXES	

Liste des abréviations

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.

ARN : Acide Ribonucléique

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

BHI : Bain Heart Infusion

BL-IBL : β -lactamine -Inhibiteurs de β -lactamases

BLSE : β -lactamase à spectre élargi.

BMR : Bactéries multi-résistantes

BTR : Bactéries toto-résistantes

C: Celsius

CAZ : Ceftazidime

CAZ-R : Résistant à la ceftazidime

CCLIN : Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales

CCCP : Cyanure de Carbonyle-3-Chloro-Phénylhydrazine

CDC: Centre for Disease Control and Prevention

CDT: Combined Disc Test (Test de Disque Combiné)

CGN : Cocci à Gram négatif

CGP : Cocci à Gram positif

CHL : Chloramphénicol

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire.

CIP : Ciprofloxacine

CIP-R : Résistant à la ciprofloxacine

CLOX : Cloxacilline

CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute.

cm : Centimètre.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

COL : Colistine

CRO : Ceftriaxone

CTX : Céfotaxime

CTX-M : Céfotaximase-Munich.

CVC : Cathéter Veineux Central

C1G : Céphalosporines de première génération.

C2G : Céphalosporines de deuxième génération.

C3G : Céphalosporines de troisième génération.

D-ala : D-alanine

DDSTs : Synergy Double Disc Test (Test de Double Disque de Synergie)

D-lac : D-Lactate

DGS : Direction Générale de la Santé

DO : Densité Optique

D-ser : D-Sérine

DDJ : Dose définie journalière

EARSS : European Antimicrobial Resistance Surveillance System

EDTA : Ethylène Diamine Tétracétique

EBCASE : Entérobactéries résistantes aux β -lactamines par hyperproduction de céphalosporinases

EBLSE : Entérobactéries sécrétrices de β -lactamase à spectre élargi.

E.cloacae : *Enterobacter cloacae*

E.coli : *Escherichia coli*

ES-OXA : Extended Spectrum Oxacilline

ENPC : Entérobactéries Non Productrices de Carbapénèmes

- EPC** : Entérobactéries productrices de carbapénémases.
- ERG** : Entérocoques résistants aux glycopeptides
- ERV** : Entérocoques résistants à la vancomycine
- ERY** : Erythromycine
- ES** : Etablissement de santé.
- FHA** : Friction Hydro-Alcoolique
- FOS** : Fosfomycine
- FOX** : Céfoxitine
- G** : Groupe
- GEN** : Gentamicine
- GES** : Guyana Extended-spectrum Béta-lactamase
- GISA** : Staphylococcus aureus de sensibilité diminuée aux glycopeptides
- GPSA** : Glycopeptides Résistants aux Staphylococcus aureus
- GN** : Gélose nutritif
- GSC** : Gélose au sang Cuit
- GSF** : Gélose au Sang Frais
- h** : Heure
- HCSR** : Haut Conseil de Santé Publique
- I** : Intermédiaire
- IAS** : Infection associée aux Soins
- ILC** : Infections Liées aux Cathéters
- 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*
- KPC**: *Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase*
- KT** : Cathéter
- LCR** : Liquide ciphalo-rachidien
- MALDI-TOF**: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-Of Flight Mass Spectrometry
- MBL**: Métallo- β -lactamases

McF : Mac Farland

MH : Muller Hinton

Mg : Milligramme

ml : Millilitre

mm : Millimètre

mn : Minute

MLS : Macrolides, lincosamides et streptogramines

µm: Micro mètre

MYSTIC : Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection.

NaCl : Chlorure de sodium

NCCLS : National Comittte for Clinical Laboratory Standards

NDM : New Delhi metallo-β-lactamase

NMC-A : Non Metallo Carbapenemase A

NIT : Nétilmicine

OMS : Organisation mondiale de santé.

oprD : Opéron D

OXA : Oxacilline

Paeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

PAMR : *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant

PAVR : Pneumopathie Acquisse sous Ventilation Mécanique

PCR : Polymerase chaine reaction

PDP : Prélèvement distal protégé.

PER : Pseudomonas Extented Resistance

PH : Potentiel d'Hydrogène

PIP : Pipéracilline.

PLP : Protéines liant la pénicilline

P.mirabilis : *Proteus mirabilis*

PN : Pneumopathie Nosocomiale

PS : Précaution Standard

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

SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative

SFAR : Société Française d'Anesthésie et de Réanimation

SFHH : Société Française d'Hygiène Hospitalière

SFC : Hybridation sur puces

SME : *Serratia Marcescens Enzymes*

spp : Speaces

TCC : Ticarcilline + acide clavulanique

TCY : Tétracycline

TEM : Temoneira

TLA : TEM Like Activity

TIC : Ticarcilline

TZP : Pipéracilline + tazobactam

UMC : Urgences Médico-Chirurgicales

UDP : Uridine diphosphate

VISA : *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée à la vancomycine

VEB : Vietnamiense Extended-spectrum Béta-lactamase

VIM : Verona integro-encoded metallo-β-lactamase

° : Degré

% : pour cent

+ : Positif

- : Négatif

> : Supérieur

< : Inférieur

LISTES DES FIGURES

Figure N°1 : Mécanismes de résistance à l'antibiotique.....	6
Figure N°2 : Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i> au microscope électronique.....	14
Figure N°3 : <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à l'oxacilline (SAMR).....	18
Figure N°4 : Screening test à l'oxacilline.....	18
Figure N°5 : Détection de la PLP2a par test d'agglutination.....	19
Figure N°6 : Milieux chromogènes pour la détection des SARM.....	20
Figure N°7 : Analyse des populations sur milieu BCC avec Vanco 0-6 mg/l : 2McF, 48h...26	
Figure N°8 : Souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de bêta-lactamase à spectre étendu (Test de synergie).....	31
Figure N°9 : <i>K.pneumoniae</i> productrice de BLSE (Test du double disque positif).....	31
Figure N°10 : Antibiogramme d'une souche d' E.coli sur une gélose MH avec et sans cloxacilline.....	32
Figure N°11 : E-test (Détection BLSE).....	32
Figure N°12 : Gélose Brilliance.....	33
Figure N°13 : Gélose chromID ESBL.....	33
Figure N°14 : Test à la cloxacilline sur une souche de <i>K.pneumoniae</i> BLSE (-) et CASE (+).....	36
Figure N°15 : Aspect d' <i>Acinetobacter baumannii</i> au microscope électronique.....	38
Figure N°16 : Test de synergie positif (Bouchon de champagne).....	41
Figure N°17 : E-Test BLSE positif.....	41
Figure N°18 : Test de Rosco.....	42
Figure N°19 : Test de Hodge modifié.....	42
Figure N°20 : Test à l'EDTA positif.....	42
Figure N°21 : Carba NP test positif et négatif.....	43
Figure N°22 : Aspect de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au microscope électronique.....	45
Figure N°23 : Souche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> productrice de β -lactamase à spectre étendu.....	49
Figure N°24 : Hyperproduction de céphalosporinase naturelle AmpC.....	50
Figure N°25 : <i>P. aeruginosa</i> producteur de carbapénémase de type B.....	50

Figure N°26 : Hyper expression du système MexAB-OprM.....	51
Figure N°27 : Comparaison des résultats de l'E-test sur la gélose Muller-Hinton ordinaire (a) et la gélose Muller-Hinton avec CCCP(b).....	51
Figure N°28 : Apparition d'un CDT positif pour EPC productrice de KPC.....	57
Figure N°29 : Test de double disque de synergie.....	58
Figure N°30 : bandelette d'Etest.....	58
Figure N°31 : Test de Hodge modifié.....	59
Figure N°32 : Aspect des Entérocoques au microscope électronique.....	62
Figure N° 33 : Les étapes de l'étude bactériologique des BGN.....	76
Figure N°34 : Les étapes de l'étude bactériologique des CGP	77
Figure N°35: Antibiogramme standard des <i>Staphylococcus aureus</i> (FOX).....	78
Figure N°36: CMI a la vancomycine, technique de dilution en milieu gélosé. <i>Staphylococcus aureus</i>	78
Figure N°37 : Entérobactérie productrice de BLSE; test de synergie positif.....	79
Figure N° 38: Test de double disque positif.....	79
Figure N°39: Antibiogramme standard des Entérobactéries (IMP).....	80
Figure N°40 : CMI technique de dilution en milieu gélosé. Entérobactéries.....	80
Figure N°41: CMI bandelette de l'IMP. Entérobactéries.....	81
Figure N°42: Test de Hodge modifié. Entérobactéries.....	81
Figure N°43 : Test de disque combiné à l'EDTA.....	82
Figure N°44: Antibiogramme standard des Entérocoques (VAN et TEC).....	82
Figure N°45: CMI vancomycine Entérocoque. Technique de dilution en milieu gélosé.....	83
Figure N°46: CMI bandelette de VAN et TEC. Entérocoque.....	83
Figure N°47: Taux des BMR isolées au sein de l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales du CHU Blida.....	84
Figure N°48 : Répartition des BMR isolées selon le type de BMR.....	84
Figure N°49 : Répartition BMR selon le type de prélèvement.....	85
Figure N°50 : Répartition des souches de BMR isolées par année d'isolement.....	86
Figure N°51 : Evolution des taux des BMR isolées entre 2016 et 2019.....	87
Figure N°52 : Répartition des ERC3G isolées selon l'espèce.....	88
Figure N°53 : Répartition des ERC3G isolées selon l'espèce par année.....	88
Figure N°54 : Répartition des ERC3G selon le profil BLSE.....	89
Figure N°55 : Taux des Entérobactéries productrices de carbapénèmases.....	90
Figure N°56 : Répartition des EPC selon le type de prélèvement.....	90

Figure N°57 : Répartition des EPC selon l'espèce.....91

Figure N°58 : Evolution des taux des EPC isolées entre 2016-2019.....91

Figure N°59 : Taux des Entérocoques résistants aux glycopeptides.....92

Figure N°60 : Evolution des taux des ERG isolés entre 2016-2019.....93

LISTE DES TABLEAUX

PARTIE THEORIQUE

Tableau N°I : Pourcentage des SARM entre 2014 et 2017 en Algérie.....	17
Tableau N°II : Les techniques utilisées pour le screening de la résistance aux glycopeptides.....	25
Tableau N°III : Les CMI de S.aureus aux glycopeptides (Vancomycine, teicoplanine).....	25
Tableau N°IV : Pourcentage des EBLSE entre 2014 et 2017 en Algérie.....	30
Tableau N°V : Caractéristiques des principaux milieux chromogènes des Entérobactéries BLSE.....	33
Tableau N° VI : Les différentes classes d'Ambler des carbapénèmases.....	55
Tableau N°VII : Les caractéristiques des principaux types de résistance aux glycopeptides chez les Entérocoques.....	63
Tableau N°VIII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et leurs interprétations chez les Entérocoques (VAN, TEC).....	65
Tableau N°IX : Valeurs critiques des concentrations minimales inhibitrices et leurs interprétations chez les Entérocoques.....	66
Tableau N°X : Milieux chromogènes commerciaux utilisés pour le dépistage des ERG.....	66

PARTIE PRATIQUE

Tableau N°XI : Les souches de référence utilisées au laboratoire de microbiologie.....	76
Tableau N°XII : Proportion de la résistance par BMR.....	85
Tableau N°XIII : Répartition des ERG selon l'espèce et le type de prélèvement.....	92
Tableau N°XIV : Entérocoques et antibiorésistance.....	93

RESUME

Les services de réanimation « épicrocentro de la résistance aux antibiotiques », sont le lieu où les infections à bactéries multirésistantes sont les plus fréquentes, malgré les mesures de prévention en vigueur.

Le présent travail est une étude rétrospective sur une durée de quatre années (Janvier 2016-Décembre 2019) , réalisée dans l'unité de réanimation du service des UMC du CHU de Blida, portant sur l'ensemble des BMR et des BHRe isolées , afin de voir l'évolution du taux de ces bactéries , d'évaluer leur implication en pathologie et d'étudier leur mécanisme de résistance aux antibiotiques.

Nous avons recensé 1451 souches bactériennes provenant de différents prélèvements, parmi ces souches, 618 étaient des BMR soit un taux de **42.59%**. Les Entérobactéries résistantes aux C3G sont les BMR prédominantes avec un taux de **51,78%**, suivi de *A.baumannii* avec un taux de **37.86%**. Les BMR proviennent essentiellement des prélèvements distaux protégés avec un taux de **39.31% (228/580)**.

Durant la période de l'étude, **52** BHRe ont été isolées, dont **47** Entérobactéries productrices de carbapénèmases et **05** Entérocoques résistants aux glycopeptides. L'espèce d'Entérobactéries productrice de carbapénèmases la plus rencontrée est *K.pneumoniae*, et l'espèce d'Entérocoques résistant aux glycopeptides la plus fréquente est *E.faecium*.

L'isolement des BMR / BHRe représente une réelle menace au niveau des services de réanimation à cause de la difficulté d'éradication de ces bactéries une fois disséminées.

Il est nécessaire et urgent de prendre des mesures préventives et organisationnelles en priorité une surveillance stricte et continue, une vigilance des différents intervenants, un respect des règles de prescription des antibiotiques, et un renforcement des mesures d'hygiène.

Mots clés : BMR, BHRe, Antibiorésistance, Réanimation , Prévention.

ABSTRACT

The intensive care unit, the "epicentre of antibiotic resistance", is the place where infections with multi-resistant bacteria are the most frequent, despite the preventive measures in place .

The present work is a retrospective study over a period of four years (January 2016-December 2019), carried out in the resuscitation unit of the UMC department of the Blida University Hospital, covering all BMR and isolated BHRe, in order to see the evolution of the rate of these bacteria, to evaluate their involvement in pathology and to study their mechanism of antibiotic resistance.

We have identified 1451 bacterial strains from different samples, among these strains, 618 were BMR, a rate of **42.59%**.

C3G-resistant Enterobacteriaceae are the predominant BMR with a rate of **51.78%**, followed by *A.baumannii* with a rate of **37.86%**.

RBMs are mainly from protected distal swabs with a rate of **39.31% (228/580)**.

During the study period, **52** BHRe were isolated, including **47** carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and **05** glycopeptide-resistant Enterococci. The most common carbapenemase-producing Enterobacteriaceae species is *K.pneumoniae*, and the most common glycopeptide-resistant Enterococci species is *E.faecium* .

The isolation of BMR / BHRe represents a real threat to resuscitation services because of the difficulty of eradicating these bacteria once they have spread.

It is necessary and urgent to take preventive and organizational measures as a matter of priority: strict and continuous surveillance, vigilance of the various parties involved, compliance with antibiotic prescription rules, and reinforcement of hygiene measures.

Keywords: BMR, BHRe, Antibiotic resistance, Resuscitation, Prevention.

INTRODUCTION


Depuis la découverte de la pénicilline en 1928 par Alexander Fleming, les molécules permettant de traiter les infections bactériennes n'ont cessé de progresser. D'année en année, de nouvelles classes thérapeutiques ont été découvertes et ont permis de traiter un plus grand nombre de maladies liées aux infections bactériennes. Cependant, la surutilisation de ces molécules ont compromis l'efficacité des antibiotiques envers les bactéries. A travers une pression de sélection trop importante, les bactéries ont développé de nouveaux mécanismes pour occulter l'effet des antibactériens. Ces nouvelles bactéries dites « résistantes », sont devenues une importante menace pour la santé (**A.Joffery 2017**).

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 (**Y.Eddayab 2008**).

Après les BMR, d'autres bactéries résistantes nous menacent, ce sont les bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) : les Entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) et les Entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG). (**V.Caveriviere 2016**). Elles sont peu virulentes mais en cas de rupture de l'équilibre hôte bactérie, peuvent être à l'origine des pathologies invasives comme les septicémies, les endocardites et les méningites. (<https://www.cpias-pdl.com/accompagnement/bacteries-hautement-resistantes-emergentes-bhre/>)

Les infections à BMR sont un problème majeur à l'hôpital, particulièrement dans les services de réanimation « épicerie de la résistance aux antibiotiques ». 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. La fréquence d'acquisition des BMR dans un service peut être considérée comme un marqueur de qualité dans l'organisation des soins. Ainsi, la surveillance et le contrôle de ces infections doivent être des objectifs prioritaires dans les services de réanimation (**C.Auboyer 2003 ; A.Zegmout 2008**).

Le laboratoire de microbiologie joue un rôle essentiel dans le diagnostic des infections causées par des BMR et des BHRe, ce qui permet d'améliorer la prise en charge thérapeutiques de ces infections. Ainsi, nous avons réalisé ce travail au niveau du laboratoire central, unité de microbiologie du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Blida unité Frantz Fanon, qui consiste à déterminer l'évolution des taux des principales BMR/BHRe isolées dans l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales (UMC) du CHU Blida.



***PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE***

CHAPITRE I
GENERALITES

CHAPITRE I : GENERALITES

I.1.LES ANTIBIOTIQUES :

I.1.1.Définition :

À l'origine, le mot «antibiotique» (ATB) désigne tout produit microbien qui, même à de très faibles concentrations, inhibe ou tue certains micro-organismes. On l'emploie maintenant dans un sens plus large qui inclut, en outre, toute substance synthétique ou semi-synthétique dotée de ces propriétés.

Les antibiotiques peuvent être soit bactéricides, soit bactériostatiques et un antibiotique bactéricide à une certaine concentration peut s'avérer bactériostatique à concentration plus faible (**P.singleton 2005**).

I.1.2.Mécanisme d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte, ils sont donc actifs sur les bactéries en phase de multiplication(**L.Pirothet al 2018**).

Ils agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie des bactéries (**J.Francois et al 2003**).

Le mécanisme d'action des antibiotiques n'est pas toujours parfaitement élucidé mais on distingue deux grands modes d'actions :

❖ Toxicité sélective au niveau de la synthèse :

- de la paroi bactérienne ;
- des protéines ;
- des enveloppes membranaires ;
- des acides nucléiques.

❖ Inhibition compétitive :

Dans ce cas, l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (**D.Mohammedi 2012**).

I.1.3.Classification des antibiotiques :

La classification des antibiotiques repose sur leurs structures chimiques et leurs mécanismes d'action, lesquels conditionnent leurs spectres d'activités (**L.Le Minor et M. Veron 1989**).

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (bétalactamines, glycopeptides, fosfomycine, aminosides, macrolides et apparentés, tétracycline, phénicolés, polymyxines, quinolones et fluoroquinolones, sulfamides, acide fucidique, rifamycines, nitrofuranes, novobiocine, nitro-imidazolés) (**F.Jehl et al 2003**).

Nous adopterons la classification selon le mode d'action et la structure chimique, la liste des antibiotiques cités n'est pas exhaustive.

I.1.3.1.Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane (paroi) :

a) Les Bétalactamines:

Le mécanisme d'action des β -lactamines repose sur leur liaison aux enzymes participant à la synthèse des peptidoglycane, principal constituant de la paroi bactérienne : les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) ou « penicillinbinding proteins » (PBP). L'interaction des

β -lactamines avec les PLP entraîne l'inhibition de la biosynthèse et du remodelage du peptidoglycane par inhibition des fonctions de transpeptidation.

Il s'agit d'une famille d'antibiotiques bactéricides qui comprend 5 groupes majeurs : **Les pénames, les pénèmes, les oxapénames, les céphèmes et les monobactames (K.Rahal2013).**

❖ **Pénames :**

Ce groupe d'antibiotiques se subdivise en plusieurs sous-groupes : Pénicilline G et ses dérivés, Penicillines M, Aminopencillines, Carboxy-pénécillines, Ureido-penicillines (Acyl-amino-penicillines), Amidino-pénécillines (**J.Francois et al 2003;L.Le Minor et M.Veron 1989 ; D.Yala et al 2001**).

❖ **Céphèmes :**

Comprend les céphèmes, céphamycines et l'oxa-1-céphèmes, en dépit de leurs différences de structure sont souvent désignés en céphalosporines et classés selon leur activité antibactérienne en générations :

Céphalosporines de 1^{ère} génération : sensibles aux céphalosporinases de nombreux bacilles à Gram négatif (exp : Céfaloine, Céfazoline, Cefaclor) ;

Céphalosporines de 2^{ème} génération : Céfoxitine, Céfotétan ;

Céphalosporines de 3^{ème} génération : Céfotaxime, Ceftazidime ;

Céphalosporines de 4^{ème} génération : Céfépime, Cefpirome, Cefozopran

(**<https://www.vidal.fr/classifications/atc/c:5599>**).

Céphalosporines de 5^{ème} génération : Céftobiprole ; Ceftaroline ; Ceftolozane

(**<https://www.vidal.fr/classifications/atc/c:5599>**).

Ce sont tous des ATBs à large spectre mais dont l'intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif (**D.Mohammedi 2012**).

❖ **Oxapénames :**

Amoxicilline + acide clavulanique et Ticarcilline + acide clavulanique.

❖ **Monobactames :**

Aztréonam.

❖ **Carbapénèmes :**

Imipénème, méropénème, ertapénème, faropénème, doripénème. (**D.Mohammedi 2012**).

b) Les glycopeptides :

Sont des ATB bactéricides inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne, plus précisément du constituant majeur de celle-ci, le polymère peptidoglycane (**P.Courvalin 2009**).

Sont des antibiotiques à structure complexe hétérocyclique associant une partie peptidique, une partie osidique et des chaînes d'acides gras. Leur spectre d'action est étroit, ils agissent sur les bactéries à Gram positif (**A.Benslimaniet al 2010**).

Ce groupe comprend la vancomycine et la teicoplanine qui sont utilisées en milieu hospitalier dans le traitement des infections sévères à cocci à Gram positif (**A.Benslimaniet al 2010**).

Ils agissent par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne par blocage de la polymérisation du peptidoglycane (**D.Mohammedi 2012**).

Oritavancine (ORBACTIV) Un nouveau glycopeptide a l'AMM dans le traitement des infections bactériennes aiguës de la peau et des tissus mous chez l'adulte (**HAS 2015**).

c)La fosfomycine :

Agisse par inhibition de la synthèse des précurseurs du peptidoglycane (stade précoce de sa synthèse) (**D.Mohammedi 2012**).

I.1.3.2.Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines :

a) Les aminosides :

Ce sont des hétérosides naturels à large spectre d'action, fortement et rapidement bactéricides, ils doivent être réservés aux infections sévères à bacilles à Gram négatif et à Staphylocoques (**F-H.Kayser et al 2008**).

Ils agissent au niveau de la sous-unité 30S du ribosome en provoquant une erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines (**J.Francois et al 2003 ;L.Le MINOR et M.Veron 1989 ; D.Yala et al 2001**).

Cette famille d'antibiotiques comprend : Streptomycine, Kanamycine, Amikacine, Gentamycine, Nétilmycine, Spectinomycine...

b) Les Macrolides-Lincosamides-Streptogramines (MLS) :

Les macrolides utilisés en thérapeutiques ont un macrocycle lactone à 14, 15 ou 16 atomes de carbone (14 atomes : érythromycine, 15 atomes : azytromycine, 16 atomes : josamycine, spiramycine), ils sont actifs sur les cocci à Gram positif et à Gram négatif, les Chlamydia et les Mycoplasmes (**C. Nauciel2000**).

Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines, ils agissent au niveau de la sous unité 50S du ribosome ; ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation ; sont des ATBs bactériostatiques (**R.Leclercq 2006 ;J.Francois et al 2003 ; L.LEMinor et M.Veron 1989**).

c)Les tétracyclines :

Ils sont des inhibiteurs de la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique en agissant au niveau de la sous unité 30S du ribosome, ils empêchent la fixation de l'aminoacyl-ARNt (**L.Le Minor et M.Veron 1989 ;C.Poyart 2006**).

Cette famille d'antibiotiques comprend : Oxytétracycline, Chlortétracycline, Doxycycline, minocycline, Glycylcyclines (Tigécycline)(**L.LeMinor et Veron M 1989 ; C.POYART 2006**).

Sont des ATB à large spectre mais résistances fréquentes (**A.Benslimani et al 2010**).

d) Les Phénicolés :

Cette famille comprend le Chloramphénicol, Thiamphénicol. Ils Inhibent la synthèse des protéines par fixation sur la sous-unité 50S du ribosome (**L.Le Minor et M.Veron 1989 ; D.Yala et al 2001 ; V.Cattoir2006**).

e) L'acide fucidique :

Inhibe l'élongation au niveau du ribosome, arrêtant ainsi la synthèse protéique. Spectre limité surtout utilisé comme antistaphylococcique (V.Cattoir 2006 ; C.Rabaud et T. May 2000).

f) Oxazolidinones : linézolide et ténezolide

les oxazolidinones constituent une classe d'antibiotiques utilisée pour traiter les infections graves, souvent après que d'autres antibiotiques se sont révélés inefficaces (LE MANUEL MSD 2018).

I.1.3.3. Antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires :

Les polymyxines (Colistine) : 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. Sont des ATBs bactéricides à forte dose, actifs sur les bacilles à Gram négatif (V.Cattoir 2006).

I.1.3.4. Antibiotiques inhibiteurs la synthèse ou le fonctionnement des acides nucléiques :**a) Les quinolones et les fluoroquinolones :**

Elles inhibent l'élongation de l'ADN bactérien et bloquent la réplication bactérienne (J.Francois et al 2003 ; L.Le Minor et Veron M. 1989 ; A.Bryskier 1999).

Les quinolones ont un spectre étroit limité aux bacilles à Gram négatif à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*, tandis que les fluoroquinolones ont un spectre large (A.Benslimani et al 2010).

b) La Rifampycine :

Antibiotique bactéricide, inhibant la synthèse de l'ADN bactérien. Actif sur les Mycobactéries, divers bacilles à Gram négatif dont *Brucella* (J.Francois et al 2003 ; L.Le Minor et M. Veron 1989).

c) Les nitrofuranes :

Ce sont des produits ayant un large spectre, administrés per os. La nitrofurantoïne est utilisée exclusivement dans les infections urinaires. D'autres molécules (nifuroxazide, nifurzide) ne sont pas absorbées et sont utilisées pour le traitement d'infections intestinales (C.Nauciel et J-L.Vildé 2005).

d) Nitro-imidazolés :

Activité bactéricide par altération de l'ADN bactérien, conduisant à l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques. Spectre limité aux bactéries anaérobies, surtout les bacilles à Gram - et les bacilles à Gram + sporulés. (L.Piroth et al 2018).

e) Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates (inhibiteurs compétitive) :

Association sulfamide + triméthoprime : Le Bactrim® - cotrimoxazole.

Est une association de deux antibiotiques, le sulfaméthoxazole et le triméthoprime qui agissent en synergie sur le métabolisme de l'acide folique de la bactérie (D.Yala et al 2001).

I.2.LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES :

I.2.1 Définition :

❖ Définition microbiologique :

Une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées (A.Muylaert et J.G.Mainil 2012).

❖ Définition clinique :

Une bactérie est dite « résistante » quand elle échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade, c'est ce qui se manifeste par un échec clinique relatif ou absolu de l'antibiothérapie. Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, état général, etc.) après environ 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique (K.Weiss 2002).

❖ Définition thérapeutique :

Une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable in vivo (J-L.Aboyamoroh 2013).

I.2.2.Types de résistances:

I.2.2.1. Résistance naturelle:

La résistance naturelle à un antibiotique donné est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce (J-L.Aboyamoroh 2013).

C'est une caractéristique propre, appartenant à l'ensemble des souches de cette espèce ou de ce genre quel que soit les conditions d'isolement, elle est programmée sur le génome bactérien, donc elle est constante à l'intérieur du taxon. (A.ROS 1999). Elle contribue à définir le spectre d'activité des antibiotiques (N.Hidri et al 2001).

I.2.2.2. Résistance acquise:

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme (J-L.Aboyamoroh 2013).

Elle est liée à la sélection, sous la pression exercée par les antibiotiques sur les bactéries, de microorganismes ayant acquis des mécanismes de résistance. Elle existe suite à l'acquisition d'un ou de plusieurs mécanismes de résistance souvent transférée par un support génétique faisant partie d'élément mobile (plasmide ou transposons). Elle peut ne concerner qu'une souche au sein d'une espèce bactérienne. C'est cette résistance qui pose actuellement problème, en médecine humaine et vétérinaire (S.Schwarzet E.Chasus-dancla 2001).

La résistance acquise possède généralement un faible risque de transmission horizontale lorsque cette résistance est due à une mutation chromosomique. En revanche, elle est considérée comme ayant un potentiel plus élevé pour la diffusion horizontale, lorsque les gènes de résistance sont présents sur des éléments génétiques mobiles (T-A.Benabbou 2012).

I.2.3.Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques :

On peut classer les mécanismes de résistance en quatre (4) groupes qui sont représentés au niveau de la figure N°1.

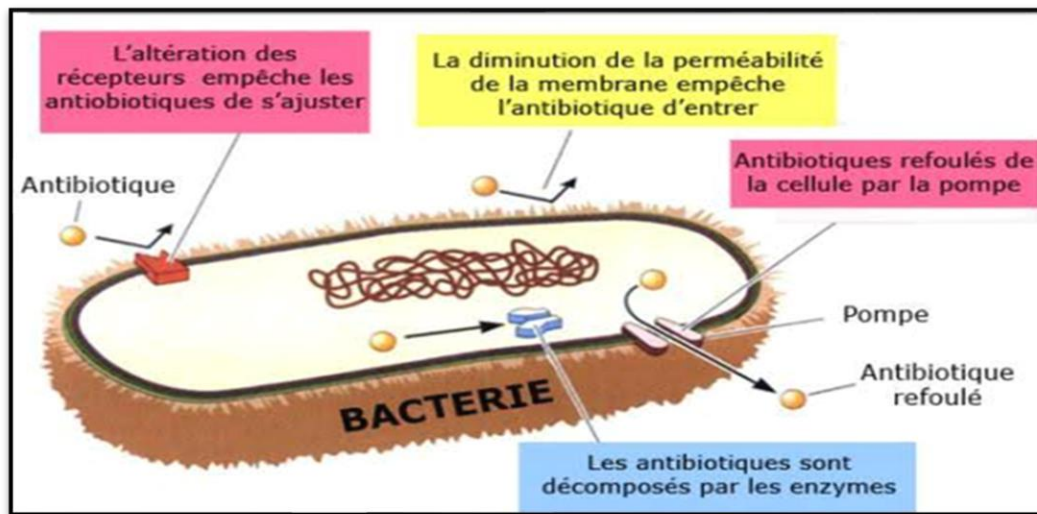


Figure N°1 :Mécanismes de résistance à l'antibiotique .

(<http://antibiotiques-tpe.e-monstie.com/pages/résistance-bactérienne/les-mecanismes.html>)

I.2.3.1.Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité.Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion (A.Muylaert et J-G.Mainil2012).

Ce type de résistance est représenté principalement par les bêta-lactamases codées par des plasmides ou des éléments génétiques transposables (A.Lozniewski et C.Rabaud 2010).

I.2.3.2.Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique :

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries à Gram positives, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries à Gram positifs et à Gram négatifs.

Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible.

Le remplacement de la cible de l'antibiotique est un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les diaminopyrimidines (triméthoprim) et les bêta-lactamines... (L.Guardabassiet P.Courvalin2006).

I.2.3.3.Pompes à efflux (l'efflux actif) :

Une réduction de l'accumulation intra bactérienne suite à l'expression d'un transporteur actif qui expulse l'antibiotique, a été décrite pour la première fois vis-à-vis des tétracyclines. Aujourd'hui, il apparaît qu'il s'agit d'un mécanisme de résistance extrêmement répandu et capable de réduire l'activité de quasi toutes les classes d'antibiotiques.

De façon inquiétante, on décrit à présent des pompes capables de reconnaître plusieurs classes d'antibiotiques et donc responsables d'une résistance croisée. Ces pompes sont particulièrement présentes chez les bactéries à Gram-négatif, comme *Pseudomonas aeruginosa* (F. Van bambeke et P. Tulkens 2009-2010).

I.2.3.4.Perméabilité réduite :

Mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie (A. Lozniewski et C. Rabaud 2010).

I.2.4.L'étendue de la résistance:

L'efficacité remarquable des antibiotiques s'est accompagnée de leur utilisation massive et répétée en santé humaine et animale. Ce phénomène a généré une pression de sélection conduisant à l'apparition de résistances. La mauvaise utilisation des antibiotiques, passant par des traitements trop courts ou trop longs, parfois mal dosés, est très souvent accusée de générer des résistances (C. Nathan et O. Cars 2014). Ces résistances sont devenues fréquentes et préoccupantes, certaines souches multirésistantes font maintenant partie de l'écologie bactérienne à prendre en compte. Des patients sont actuellement porteurs à long terme d'une ou plusieurs de ces bactéries multirésistantes (C. Cattoen 2015).

De nouveaux termes ont été introduits pour décrire la magnitude de la multirésistance: "Multidrug resistant" [MDR], "Extensively drug-resistant "[XDR] et "Pandrug resistant" ; ces termes présentent différentes nuances du spectre de la multi-résistance aux antibiotiques qui va d'une définition minimale (résistance à au moins trois classes majeures d'antibiotiques) en passant par un niveau intermédiaire (notion d'ultra-résistance, résistance à tous les antibiotiques à l'exception d'une ou deux classes) jusqu'à un niveau maximal (toto-résistance, résistance à toutes les classes d'antibiotiques) (K. Wiess 2002).

I.2.5.Résistance croisée, Co-résistance et Co-sélection :**I.2.5.1.Résistance croisée :**

On parle de résistance croisée, lorsqu'une résistance à un antibiotique engendre une résistance à un autre composé par un seul et même mécanisme biochimique. Le phénomène de résistance croisée peut survenir parmi tous les membres d'une classe d'antibiotiques, comme c'est le cas pour les 120 sulfamidés, ou être limité à quelques membres d'un groupe, comme pour les aminoglycosides, ou encore impliquer des antimicrobiens appartenant à des classes différentes.

Une résistance croisée est aussi observée, lorsque plusieurs antibiotiques utilisent la même cible, comme par exemple, les macrolides, les lincosamides et les streptogramines B qui agissent tous sur le ribosome (A. Muylaert et J-G. Mainil 2012).

I.2.5.2. Co-résistance :

La Co-résistance se définit, comme l'existence au sein d'une bactérie de plusieurs mécanismes conférant chacun une résistance à diverses familles d'antibiotiques. Les gènes correspondants sont souvent adjacents (physiquement liés) et exprimés d'une façon coordonnée comme dans les intégrons (A.Muylaert et J-G.mainil 2012).

I.2.5.3. Co-sélection :

La Co-sélection, c'est-à-dire la sélection d'un microorganisme résistant à un antibiotique lors d'une exposition à un autre agent antimicrobien, résulte des phénomènes de résistance croisée et de Co-résistance (A.Muylaert et J-G.mainil 2012).

CHAPITRE II
LES INFECTIONS EN REANIMATION

CHAPITRE II : LES INFECTIONS EN REANIMATION

II.1.Définition:

La réanimation, "épicerie de la résistance aux antibiotiques" est restera la discipline médicale où les infections nosocomiales sont les plus fréquentes (**C.Brun-Buisson2005**).

L'infection nosocomiale (IN) en réanimation se définit comme une infection contractée dans un service de réanimation, alors qu'elle n'était ni présente, ni en incubation, à l'admission. Elle se développe au moins 48h après l'admission (**J.Robert, 2007**).

II.2.Epidémiologie:

II.2.1.Facteurs de risque d'acquisition :

Les patients de réanimation sont parmi les plus exposés aux infections acquises à l'hôpital du fait notamment de deux facteurs (**J-C.Lucet et L.Bouadma2015**):

- **Facteurs exogènes** : représentés par l'exposition aux dispositifs invasifs comme:

-l'intubation ;

-les cathéters veineux, artériels et urinaires qui court-circuitent les moyens de défense naturels du patient.

Ce sont des facteurs partiellement accessibles à la prévention (**F.Venet et G.Monneret 2018**).

- **Facteurs endogènes**: peu ou pas accessibles à la prévention au cours du séjour en service de réanimation, comme:

- l'âge ;

- la gravité ;

- l'existence de co-morbidités parfois décompensées ;

-les défaillances d'organe en rapport avec l'affection initiale. Au nombre de ces défaillances d'organe, il faut compter la défaillance immunitaire qui augmente le risque d'infections (**F. Venet et G.Monneret2018**).

Des facteurs de risque spécifique sont également colligés :

- la présence d'une antibiothérapie dans les 48 heures avant ou après l'admission ;

-la notion de la présence de bactérie multirésistante aux antibiotiques (BMR) qu'il s'agisse de prélèvements de dépistage ou cliniques (**J-C.Lucet et L.Bouadma2015**).

II.2.2.Modes de transmission :

Le manuportage est la principale mode de transmission. La contamination des mains ou des gants s'effectue au contact du patient colonisé ou infecté et des supports inertes contaminés(stéthoscopes ou brassards à tension, thermomètre...). Le risque de transmission est proportionnel à la fréquence et à la durée de ces contacts.

La transmission des BMR est favorisée par une charge excessive en soins et par des interruptions de soins qui représente la cause principale de rupture des mesures d'isolement (**O.Traoré et al 2002**).

II.2.3. Les voies de contamination :

- **La voie endogène**:

Le malade s'infecte avec ses propres germes, à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière(**SFAR, SRLF 2009**).

- **La voie exogène:** il peut s'agir soit
 - d'infection croisée, transmises d'un malade à l'autre par les mains ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical ;
 - d'infections provoquées par les germes du personnel porteur ;
 - d'infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, matériel, alimentation...) (SFAR, SRLF, 2009).

II.3. Les types d'infection en service de réanimation:

II.3.1. Les pneumonies acquises en réanimation :

La pneumopathie nosocomiale (PN) est un problème de santé publique qui concerne tous les services hospitaliers et en particulier la réanimation (C. Brun-Buisson 2005).

Les PN représentent, la deuxième localisation d'infection nosocomiale et la première en réanimation (A. Shimiet al 2015).

Une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) correspond à toute pneumonie survenant chez un malade dont la respiration est assistée par une machine soit d'une manière invasive par l'intermédiaire d'un tube endotrachéal ou d'une trachéotomie soit d'une manière non invasive par l'intermédiaire d'un masque facial dans les 48 heures précédant la survenue de l'infection (J. Chastre et J-Y. Fagon 2002).

La PN est considérée possible devant: des signes radiologiques d'une ou de plusieurs opacités parenchymateuses anormales, récentes et persistantes et au moins un des signes suivants: des expectorations ou des sécrétions trachéales purulentes; une fièvre >38°C d'apparition récente ou une hypothermie; une hyperleucocytose >10 000 ou une leucopénie; une détérioration des échanges gazeux (A. Shimi et al 2015).

Le principal facteur de risque d'acquisition d'une infection pulmonaire au cours de la ventilation mécanique est la présence de la sonde d'intubation endotrachéal (K. Nasiriani et al 2016).

La durée de ventilation assistée est également considérée comme un facteur de risque de pneumopathie nosocomiale (J-D. Ricard 2007).

L'incidence de la PN était de 11,2%. Les bacilles à Gram négatif (BGN) étaient retrouvés dans 48,5% des cas, le *Staphylococcus aureus* dans 21,21% des cas et la *Klebsiella pneumoniae* était dans 10,7% des cas. Le taux de mortalité était de 48,33% (A. Shimi et al 2015).

II.3.2. Les infections urinaires:

L'infection urinaire (IU) représente toujours la deuxième cause d'infection acquise en réanimation après les PN (A. Alfandari 2003).

Les IUN se développent surtout secondairement sur les sondes laissées à demeure, par voie ascendante, soit endoluminale, soit extra luminale péri-urétrale. Une fois acquise, l'infection devient chronique par la production de biofilm autour du corps étrangers (F. Caron 2003).

La lésion de la muqueuse urétrale par la sonde favorise l'implantation des bactéries (P. Pavese 2003).

Neuf facteurs de risque indépendants peuvent être identifiés : la durée de sondage, l'absence d'urimètre, la colonisation du sac de drainage, le diabète, l'absence d'antibiothérapie, le sexe

féminin, les indications de sondage en dehors de celles motivées par un acte chirurgical ou la nécessité de mesurer la diurèse horaire en réanimation, la modification de la créatinine plasmatique et l'erreur lors des soins de cathéter (M.Léone et al, 2000).

L'âge et la sévérité de la pathologie sous-jacente sont relevés par certains. La durée de sondage reste le facteur de risque principal : chaque jour de sondage multiplie le risque de développer une infection urinaire sur sonde (M.Léone et al, 2000).

La plupart des infections sont dues à un groupe restreint de bactéries, *Escherichia coli* étant le germe le plus répandu (25%) dans les infections urinaires, et aussi dues à des germes multirésistants comme *Enterocoque*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp*, *Acinetobacter baumannii* (M.Léone et al 2000).

II.3.3. Les infections liées aux dispositifs intravasculaires :

Troisième cause d'infection nosocomiale en réanimation, les infections liées aux cathéters (ILC) représentent une source majeure de mortalité et de morbidité et posent de véritables problèmes diagnostiques et thérapeutiques (M.ER-Rahmany et M.Boighalem 2010).

L'infection liée au cathéter veineux central (CVC) est définie par la présence des microorganismes à la surface interne et/ou externe du cathéter responsable d'une infection locale et/ou générale. L'infection est liée au CVC quand la culture du cathéter est positive et il existe une bactériémie dans les 48 heures (O. Mimoz et Al 2001).

Les facteurs de risque des ILC sont nombreux et peuvent être schématiquement séparés en facteurs liés au patient, et ceux liés à la pose et à l'utilisation du cathéter. Les facteurs liés au terrain sont mal évalués dans la littérature. Le sexe masculin, l'immunodépression mais surtout la plus grande densité des soins augmente le risque, les âges extrêmes (≥ 60 ans et ≤ 1 an) sont aussi considérés comme un facteur de risque (M.ER-Rahmany et M.Boighalem 2010).

L'enquête nationale de prévalence des infections associées aux soins (IAS) de 2012 est éclairante : 42 % des bactériémies associées aux soins étaient liées à une ILC, la prévalence des bactériémies associées au cathéter était cinq fois plus élevée en réanimation qu'en court séjour hors réanimation (3,2 vs 0,6 %) (J-C.Lucet 2018).

Les microorganismes le plus souvent rencontrés : Staphylocoque à coagulase négative, *S.aureus*, Entérocoques, Entérobactéries, *P. aeruginosa* et *Acinetobacter sp* (J.Merrier 2005).

II.3.4. Les infections du site opératoire (ISO):

Les ISO sont classées en :

- Infection superficielle de l'incision, infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention et affectant la peau (ou les muqueuses), les tissus sous cutanés ou les tissus situés au-dessus de l'aponévrose de revêtement (SRLF and SFAR, 2009).
- Infection profonde de l'incision ou de l'organe/espace, infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, ou dans l'année s'il y a eu mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique, affectant les tissus ou organes ou espaces situés au niveau ou au-dessous de l'aponévrose de revêtement, ou encore ouverts ou manipulés durant l'intervention (SRLF and SFAR 2009).

L'infection profonde (de l'incision ou de l'organe/espace) témoignent de la gravité potentielle des ISO et sont fréquemment responsables d'une reprise opératoire, d'un allongement de la

durée d'hospitalisation et d'une létalité plus élevée (T C. Horan et al, 1992; KB Kirkland et al,1999).

L'infection de la plaie opératoire est acquise lors de l'intervention par transmission au niveau du champ opératoire d'un germe provenant soit de l'équipe chirurgicale ou de son environnement, soit du patient (A.Lubega et al 2017; T-C.Horan et al 1992).

La durée du séjour préopératoire augmenterait significativement le risque de l'ISO. En effet, un séjour préopératoire long entraîne une modification de la flore bactérienne du patient par colonisation des bactéries d'origine hospitalière. Le deuxième facteur de risque est la gravité de maladies sous-jacentes (A-J.Reiffelet al 2013).

Les ISO représentent 11 % de l'ensemble des infections nosocomiales (C. Clin Paris Nord).

Elles touchent 3 à 7 % des opérés, leur délai médian de survenue est de dix jours après l'intervention chirurgicale (M. Chadli M et al 2005).

Les principaux germes responsables d'infection du site opératoire : *S. aureus*, Staphylocoque à coagulase négative (SCN) et *Pseudomonas aeruginosa* (H.Tominaga et al 2016).

également les Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi EBLSE sont impliquées dans les infections de plaies ou du site opératoire (10 à 20%) (Ministère Français de l'Emploi et de la Solidarité. Comité Technique des Infections Nosocomiales-1999).

CHAPITRE III
LES BACTERIES MULTIRESISTANTES
(BMR)

CHAPITRE III : LES BACTERIES MULTI-RESISTANTES (BMR)

III.1.DEFINITIONS DES BMR:

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(**J-C.Lucet1998 ; H.Villalobos etM-J.Rodriguez-Struelens 2006**).

Actuellement, après effort conjoint de l'European Society of Clinical Microbiology Infectious Disease (ESCMID) et des Centres for Diseases Control (CDC), les BMR sont définies comme des bactéries possédant une résistance à au moins trois familles d'antibiotiques auxquelles elles sont habituellement sensibles (**A.Durand et al 2016**).

Les BMR sont des bactéries qui conjuguent plusieurs mécanismes de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques, ce qui limite les possibilités thérapeutiques en cas d'infection (**O. Meunier et al 2016**).

Ne sont cependant pas plus virulentes que les bactéries sensibles de la même espèce mais la multi-résistance peut rendre difficile le traitement (**J-C.Lucet 1998 ;H.Villalobos et M-J.Rodriguez-Struelens 2006**).

Elles sont associées à une augmentation de la morbidité des patients de réanimation, sont le plus souvent d'origine endogène, par sélection de mutants résistants, mais aussi exogène, par transmission croisée (**A.Durand et al 2016**).

III.2.LES PRINCIPALES BMR :

Les BMR 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 (EVR).

❖ Parmi les souches à Gram négatif, nous distinguons :

*Les Entérobactéries sécrétrices de bêtalactamase à spectre élargi (EBLSE).

*Les Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC).

Pseudomonas aeruginosa* multi résistant (PAMR) (A.Mérens et al 2011**).

❖ D'autres catégories de bactéries peuvent être rattachées à ce groupe de BMR :

*Entérobactéries résistants aux β -lactamines par hyperproduction de céphalosporinases (EBCASE).

Acinetobacterbaumanni*multi résistant (ABMR) (O.Meunier et al 2016**).

Au sein des BMR, certaines sont dites « prioritaires ». Elles présentent un haut risque de diffusion et sont endémiques. Il s'agit des SARM et des EBLSE. Les bactéries telles que *Pseudomonas aeruginosa* multi résistant et *Acinetobacter baumannii* multi résistant sont des bactéries saprophytes pouvant être responsables d'épidémies de moindre niveau dans des

contextes particuliers. Elles sont définies comme des BMR épidémiques (A.Durand et al 2016).

Actuellement, les ERG et les EPC sont considérés comme des bactéries hautement résistantes aux ATB (BHRé) (J.Debeaupuis et B.Vallet 2013).

III.3.STAPHYLOCOCCUS AUREUS:

Staphylococcus 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 (S.Zouaguiet al 2015).

III.3.1.Rappel :

Staphylococcus 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 (Figure N°2) (F-H.Kayser et E.C.Böttger 2008).

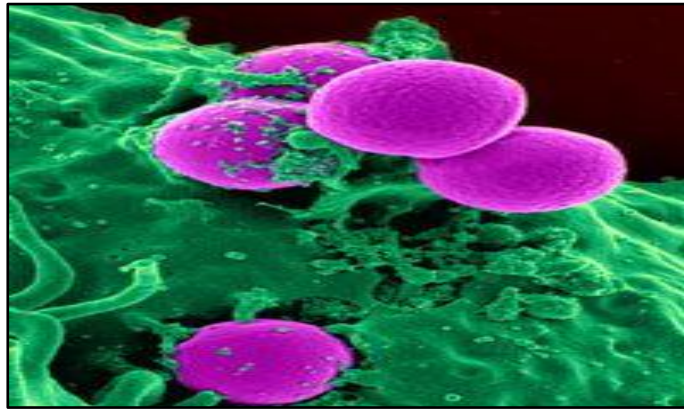


Figure N°2 : Aspect de *Staphylococcus aureus* au microscope électronique.(<http://indianexpress.com/article/technology/science/nasa-to-send-superbug-to-space-to-help-understand-its-mutation-to-resist-antibiotics-4532931/>).

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 (F-H.Kayser et E-C.Böttger 2008).

Elle colonise les territoires cutanés en particulier, les zones humides (aisselles, périnée) et les mains. Elle est aussi retrouvée au niveau du tractus respiratoire, uro-génital et les mamelles des mammifères. Parfois, elle peut se trouver dans certains produits alimentaires tels que le lait non pasteurisé et la viande. Cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement (C.Werckenthin et al 2001).

Staphylococcus aureus peut impliquer chez l'humain de multi infections locales et purulentes (furoncle, anthrax, sinusite, otite...) ; maladies liées aux toxines (intoxication alimentaire, dermatite exfoliante, syndrome du choc toxique) ; infections invasives (endocardite, sepsis) (F-H.Kayser et E.C.Böttger 2008).

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 (F-H.Kayser et E.C.Böttger 2008).

III.3.2.Résistance naturelle :

Le *Staphylococcus aureus* est naturellement sensible à presque toutes les familles d'antibiotiques à part la colistine et l'aztréonam, mais son pouvoir adaptatif lui a permis d'acquérir différents gènes de résistance. Sa première résistance était aux β -lactamines précisément aux pénicillines G. Avec le temps de nouvelles résistances se sont développées dont la résistance à la méticilline « SARM » (D.Grace et al 2018).

III.3.3.Staphylococcus aureus résistant à la méticilline “SARM” :

Les premiers cas de SARM furent décrits rapidement après les débuts de la commercialisation de la méthicilline, pour atteindre un taux endémique de près de 50 % en Europe à la fin des années 90. Les mécanismes de résistance les plus courants sont la diminution de l'affinité aux protéines de liaison à la pénicilline et la production de pénicillinase, rendant inactives toutes les β -lactamines (M.Boisson et O.Mimoz 2018).

III.3.3.1.Mécanismes de résistance :

La résistance aux bêtalactamines chez les Staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes qui sont identiques pour les *S.aureus* et les SCN: un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP. Les PLPs sont des protéines possédant une activité enzymatique (transpeptidases, carboxypeptidases ou glycosyltransférases) impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et possédant une affinité pour les bêtalactamines. La liaison des bêtalactamines aux PLPs empêche la croissance de la paroi des bactéries et entraîne la mort de celles-ci ; il y a 4 PLPs chez le *S. aureus* (J-C.Quincampoix et J-L.Mainardi 2001).

La résistance à la méticilline est déterminée par la présence d'un gène chromosomique le gène *mecA* localisé sur la Casette Chromosomique Staphylococcique SCC, cette dernière est un élément génétique mobile d'une grande importance vu sa contenance en gènes de résistance (A-S.Lee et al 2011).

Le gène *mecA* code pour une PLP supplémentaire, la PLP 2a. Cette PLP additionnelle a moins d'affinité pour les bêtalactamines et en particulier pour la méticilline ; c'est la raison pour laquelle les souches méti-R sont également résistantes à toutes les bêtalactamines (J-C.Quincampoix et J-L.Mainardi 2001).

Trois types de SARM ont été rapportés, le SARM-H (Hospitalier) qui est en cause d'infection dans le milieu hospitalier, SARM-C (Communautaire) qui touche le communautaire et le SARM-L (Livestock) qui touche les animaux d'élevage (D-M.Aissani et T.Ait Idir 2018).

Ce dernier porte le nouveau gène de résistance à la méthicilline le *mecC* qui partage 70% d'homologie avec le gène *mecA* (D.Grace et al 2018).

En outre, la présence de gènes accessoires portés par des plasmides intégrés dans la SCC_{mec} permet aux souches SARM d'acquérir un phénotype de multirésistance (D.Grace et al 2018).

III.3.3.2.Epidémiologie :**❖ Portage:**

Le réservoir naturel des Staphylocoques est l'homme et les animaux à sang chaud. Cependant, ces bactéries très résistantes sont fréquemment retrouvées dans l'environnement. Le site de colonisation préférentiel de *S.aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale, 20 à 30% des adultes sont porteurs de *S.aureus* au niveau des fosses antérieures du nez, 20% le sont également au niveau digestif et entre 8 et 15% au niveau vaginal. A partir des sites de portage, *S. aureus* colonise les territoires cutanés, en particulier les zones humides (aisselles, périnée) et les mains (A.Tristan et J.Philippe-Rasigade 2019/ www.sfm-microbiologie.org › 2019/07 BACTERIE_Staphylococcus).

❖ Mode de transmission:

La transmission intra-ou inter-humaine s'opère généralement par contact direct manuportage. Plus rarement, elle peut être indirecte à partir d'une source environnementale (vêtements, draps, matériels médicaux) (A.Tristan et J.Philippe-Rasigade 2019).

On observe également une diffusion par voie aérienne dans des conditions particulières, par exemple chez des patients porteurs de Staphylocoques et atteints de pathologies rhino-sinusiennes (P.Loulergue et S.Tourret 2003).

❖ Données épidémiologiques :***Dans le monde :**

Le SARM-H est très répandue dans les hôpitaux partout dans le monde, bien que les données épidémiologiques proviennent d'études distinctes qui souvent ne sont pas comparables suite à des différences dans la conception de l'étude, et des populations échantillonnées, les taux les plus élevés (>50%) sont rapportés dans le nord et le sud Amérique, l'Asie et Malte. Des taux intermédiaires (par exemple, Portugal (49%), Grèce (40%), Italie (37%) et Roumanie (34%)); d'autres pays européens semblent avoir généralement une faible prévalence (par exemple, les Pays-Bas et la Scandinavie) (S.Stefani et al 2012).

La prévalence des SARM-H a diminué ces dernières années dans certains pays Européens, comme l'Autriche, la France, l'Irlande, le Royaume-Uni et la Grèce. Dans d'autres pays européens, la prévalence est restée équitement stable.

Cependant, des taux très élevés de SARM sont signalés dans l'Est de l'Asie, en particulier au Sri Lanka (86.5%), en Corée du sud (77.6%), au Vietnam (74.1%), Taiwan (65.0%), Thaïlande (57.0%) et Hong Kong (56.8%). En revanche, les valeurs sont plus faibles en Inde (22.6%) et aux Phillipine (38.1%). (S.Stefani et al 2012).

Pour le SARM-C on note une diffusion mondiale de souches avec forte prévalence aux Etats Unies , faible prévalence en Europe sauf Grèce(S.Stefani et al 2012).

D'après le rapport de l'OMS sur la résistance aux antibiotiques, le risque de décès est supérieur de 64% chez les personnes atteintes du Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) comparé au risque pour les personnes atteintes d'une forme non résistante de l'infection (OMS 2014).

***Dans les pays d'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

(M.Elouennas et al 2008).

Dans certaines parties de la région Africaine de l'OMS, jusqu'à 80% des infections à staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) se sont avérées résistantes à la méthicilline (SARM) (OMS 2014).

***En Algérie :**

Comparée aux autres pays du Maghreb, l'Algérie enregistre la plus forte prévalence de SARM par rapport aux deux pays voisins qu'ont la Tunisie (18 %) et le Maroc (19 %) (S.Zouagui et al 2015).

Les SARM en Algérie font l'objet d'un programme de surveillance mené par l'A.A.R.N (Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques). Le taux des SARM des années allant de 2014 à 2017 isolés chez les patients hospitalisés tous services confondus et les patients hospitalisés aux seins de services de réanimation enregistrés par ce réseau, sont présentés dans le tableau ci-dessous.

	Pourcentage de SARM isolées chez les patients hospitalisés	Pourcentage de SARM isolées chez les patients hospitalisés au sein de service de réanimation
2014	42.93%	51.09%
2015	35.58%	38.65%
2016	36.10%	37.33%
2017	40.86%	58.38%

Tableau N°I : Pourcentage des SARM entre 2014 et 2017 en Algérie. (A.A.R.N ; Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 2014 à 2018).

III.3.3.3.Méthodes de détection des SARM :

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 (G.Prod'hom et J.Bille 2006).

III.3.3.3.1.Méthodes phénotypiques:

Un test phénotypique (par opposition à un test génotypique) est un test conventionnel qui mesure le phénotype de résistance, en rendant des résultats quantitatifs (CMI) ou qualitatifs (expression des enzymes) fondés sur des caractères observationnels (C.Billy 2003).

La caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques a un intérêt majeur dans la surveillance de la prévalence de la diffusion géographique des clones épidémiques, la mise en place des mesures du contrôle de dissémination de ces clones et dans le choix d'un schéma thérapeutique approprié (N.Grall et al 2011 ; F.Denis et al 2016).

A. Méthodes manuelles :

Il existe un certain nombre de méthodes phénotypiques manuelles, pour détecter la résistance à la méticilline, réalisées au laboratoire : la technique de diffusion des disques (céfoxitine) (Annexe I), screening test, la recherche de la PLP2a par méthode d'agglutination sur latex (CLSI 2010 ; F.Arshad et al 2016) et détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à l'oxacilline (K.Rahal et al 2014).

a) Techniques de diffusion de disques de céfoxitine :

Pour le genre *Staphylococcus*, seul le disque de céfoxitine 30µg(FOX) doit être testé dans l'antibiogramme standard(**Annexe I**) pour la détection de la résistance à l'oxacilline par production de PLP2a (gène *mecA*), les disques d'oxacillines OXA n'étant pas fiables (**K.Rahal et al 2014**).



Figure N°3 : *Staphylococcus aureus* résistant à l'oxacilline (SAMR)
(<http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/photo2detail.php?id=92#>).

Les souches *mecA*(+) doivent être reportées résistantes (R) à l'OXA (et non FOX R). Les autres bêta-lactamines (à l'exception de celles ayant une activité anti-MRSA) doivent être reportées R ou ne pas les reporter (**K.Rahal et al 2014**).

b) Screening test à l'oxacilline :

Devant tout problème d'interprétation du diamètre d'inhibition de la céfoxitine on effectue un screening test à l'oxacilline. Cette technique est réalisée selon les recommandations du NCCLS (National Commite for Clinical Laboratory Standards) par ensemencement d'un inoculum de 0,5 Mc Farland sur gélose Mueller-Hinton additionnée de 4 % de NaCl et de 6 µg/ml d'oxacilline. Après une incubation allant de 24 à 48h, la culture de plus d'une colonie de la souche testée suffit pour une résistance à l'oxacilline impliquant une résistance à toutes les β-lactamines (**M-A.Wikler2007**).(Annexe II)

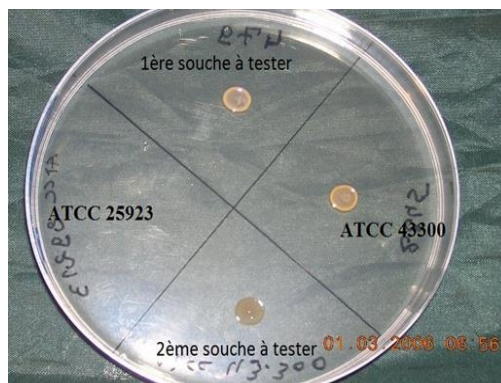


Figure N°4: Screening test à l'oxacilline
<http://slideplayer.fr/slide/4027488/>.

c) Détection de la PLP2a :

Ce test est un test d'agglutination rapide au latex qui permet la détection de la PLP2a dans des isolats de Staphylocoques et facilite l'identification de *S.aureus* résistant à la méticilline (SARM). Les particules de latex sensibilisées avec un anticorps monoclonal dirigé contre la PLP2a réagissent spécifiquement avec les Staphylocoques résistants à la méticilline pour entraîner une agglutination visible à l'œil nu.

(https://assets.thermofisher.com/TFSAssets/LSG/manuals/X6555C_FR.pdf).

Le test de détection de la PLP2a au latex présente l'avantage d'une détection directe de la protéine PLP2a et peut être réalisé rapidement avec des frais de personnel réduits. Son exactitude est potentiellement supérieure à la détection du gène *mecA* car il n'y a pas de résultats faux positifs pour des souches possédant le gène *mecA* mais incapables de produire la protéine correspondante. De plus, le test ne détecte pas les souches hyperproductrices de bêta-lactamase ou de PLP.

(https://assets.thermofisher.com/TFSAssets/LSG/manuals/X6555C_FR.pdf). (Annexe II)

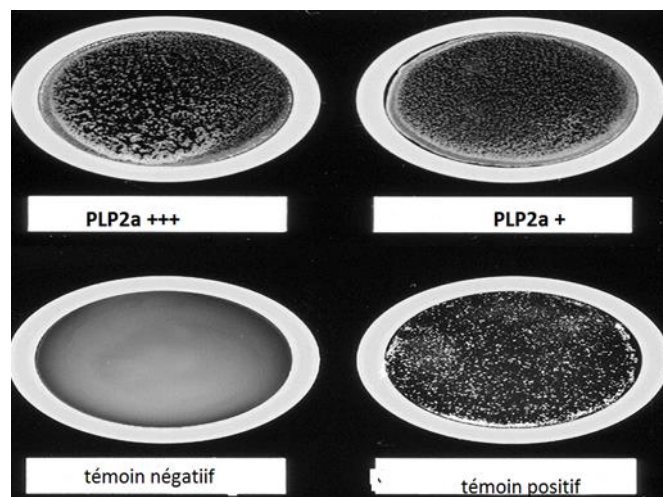


Figure N°5 : Détection de la PLP2a par test d'agglutination. (<http://jcm.asm.org/content/42/12/5881/F1.expansion.html>).

d) Détermination de la CMI à l'oxacilline :

Pour la détermination de la CMI à l'OXA on peut utiliser l'une des techniques suivantes : dilution en milieu gélosé ou MH liquide ou par E-test (**K.Rahal et al 2011**).

L'E-test a l'avantage d'être aussi facile à mettre en place qu'un test de diffusion de disque mais donne un résultat sous la forme d'une CMI. (**F.Derek et J.Brown 2001**). (Annexe I)

e) Milieux chromogènes :

Le dépistage des patients pour la détection précoce du SARM est essentiel pour prévenir les infections croisées et les épidémies (**J.Merlino et al 2002**).

Au cours des dernières décennies, des milieux chromogènes incorporant des substrats enzymatiques chromogènes et des agents antimicrobiens sont devenus disponibles pour la détection du SARM : le Oxoid Brilliance™ MRSA, CHROMagar™ MRSA, BBL™ CHROMagar™ MRSA, MRSASelect, chromID™ MRSA qui ont été signalés comme étant sensibles et spécifiques (**H.You-Chao et al 2015**).

Les milieux chromogènes ont leur domaine d'application : BBL™ CHROMagar™ MRSA et MRSASelect sont conçus pour la détection de la colonisation nasale par le MRSA, tandis que CHROMagar™ MRSA, Oxoid Brilliance™ MRSA et chromid ID™MRSA sont utilisés dans divers échantillons de dépistage, tels que les échantillons nasaux, périnéaux et de gorge. (H.You-Chao et al 2015).

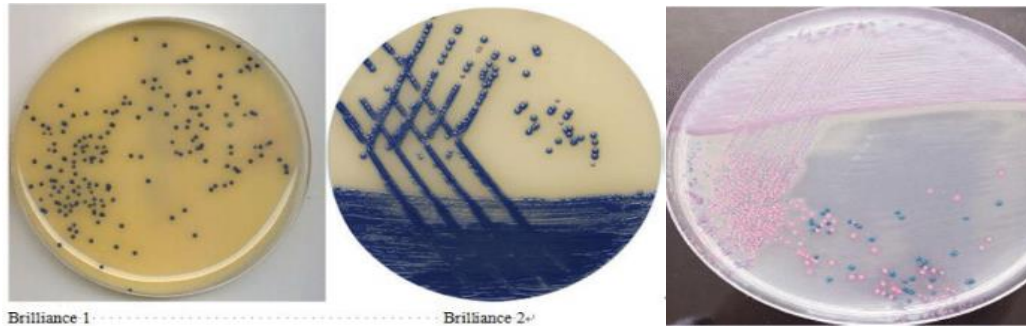


Figure N°6: Milieux chromogènes pour la détection des SARM
(H.You-Chao et al 2015).

B. Méthodes automatisées :

Des automates de bactériologie pour identification et antibiogramme sont de plus en plus utilisés (Mini-Api®, Microscan, Phoenix®, Vitek®, Vitek-2®, Vitek Compact®) (C.Émile 2008).

Dans notre pays, le Microscan walkaway (Test POS COMBO 31) et le Vitek 2 (Vitek 2: AST-P631) sont des automates utilisés pour la détermination de la sensibilité aux antibiotiques des Staphylocoques (K.Rahal et al 2014).

L'automatisation des tests de sensibilités aux antibiotiques ont permis de répondre aux besoins croissants des laboratoires hospitaliers en termes de charge de travail. En effet, ces appareils offrent une meilleure gestion du temps avec des systèmes assurant à la fois une identification bactérienne et des déterminations de CMI dans un délai rapide. En Algérie, les laboratoires hospitaliers et privés utilisent de plus en plus ces automates dans le diagnostic courant (K.Rahal et al 2014). (AnnexeI)

III.3.3.2.Méthodes génotypiques :

L'utilisation d'approches génotypiques pour la détection des gènes de résistance aux antibiotiques a également été proposée en tant qu'un moyen efficace d'augmenter la vitesse et la précision des tests de sensibilité. De nombreuses méthodes moléculaires pour détecter la résistance bactérienne aux antibiotiques au niveau génétique, ont été publiées (A-C.Fluit et al 2000). Les méthodes génétiques pour la détection des gènes de résistance sont basées sur l'hybridation et l'amplification des acides nucléiques PCR (polymerase chain reaction) (A-C.Fluit et al 2000).

La détection génotypique du gène *mecA* est devenue le standard de référence pour la détection et la confirmation de la résistance à la méthicilline pour les staphylocoques dorés. Plusieurs études ont montré une excellente corrélation entre la détection par PCR du gène *mecA* et les résultats obtenus par test de sensibilité en micro dilution. La PCR peut détecter

des séquences de gène *mecA* à partir de prélèvements biologiques de pratique courante et directement à partir des flacons d'hémocultures (C.Billy 2003).

III.3.3.3.MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of Flight Mass Spectrometry) :

MALDI-TOF est une méthode qui utilise la spectrométrie de masse, pour l'identification rapide (en quelques minutes) des organismes, par l'obtention d'un spectre caractéristique nommé « l'empreinte spectrale » d'une espèce donnée (N.Singhal et al 2015).

La spectrométrie de masse MALDI-TOF repose sur une technique d'ionisation, mise au point dans les années 80, et conduisant à l'identification des bactéries par l'analyse de leurs protéines totales (protéines ribosomales et protéines associées aux membranes (J.Descy et al 2010 ; C.Fenselau et al 2001).

La détection de mécanismes de résistance aux antibiotiques représente un intérêt particulier. Quelques études ont montré la capacité de la spectrométrie de masse MALDI-TOF à distinguer les SARM des SASM. L'identification des bactéries par spectrométrie de masse dépend étroitement de la richesse et de la qualité de la base de données constituée des spectres de référence (K.Bernardo et al 2002 ; V.Edwards-Jones et al 2000).

III.3.3.4.Traitement :

Le choix d'un antibiotique contre le SARM dépend de plusieurs facteurs, dont l'activité in vivo, la pharmacocinétique, l'innocuité, le potentiel de résistance et les coûts (M-C.Michel 2013).

En cas de résistance ou d'intolérance aux bêta-lactamines : les glycopeptides restent fréquemment actifs, mais sont réservés aux infections graves à SARM (C.Daurel et R.Leclercq 2008).

Les glycopeptides ont longtemps été considérés comme les antibiotiques de référence pour le traitement des infections à bactéries à Gram positif résistantes, notamment à SARM. Néanmoins, l'augmentation progressive de leurs concentrations minimales inhibitrices (CMIs) vis-à-vis de la vancomycine a fait reconsidérer ce paradigme, allant même jusqu'à faire baisser les valeurs seuils différenciant les souches « sensibles » des souches « intermédiaires » (de 4 à 2 mg/l) (P-E.Charles et al 2017).

D'autres antibiotiques sont également utilisés : Les aminosides (gentamicine) qui permettent d'obtenir une bactéricidie rapide, les streptogramines (pristinamycine), les macrolides, la clindamycine, le cotrimoxazole, la rifampicine, l'acide fusidique et la fosfomycine; ces trois dernières molécules sont données en association du fait des fréquences élevées de mutation (M.Eveillard 2007). De nouvelles molécules actives notamment sur les SARM ont vu le jour ces dernières années. Ainsi, le linézolide, premier représentant de la famille des Oxazolidinones, a montré une équivalence, voire une supériorité lors d'essais cliniques le comparant à la vancomycine, avec un profil de tolérance plus favorable, notamment pour ce qui concerne la néphrotoxicité. Le tédizolide est venu récemment renforcer cette famille. Parallèlement, de nouvelles céphalosporines actives sur le SARM ont été développées. Qualifiées de céphalosporines de « 5^{ème} génération », ces molécules sont actuellement représentées par la ceftaroline et le ceftobiprole (P-E.Charles et al 2017).

Pour la daptomycine plusieurs rapports de cas rapportaient une efficacité dans les indications suivantes impliquant des SARM : infection spinale, ostéomyélite, arthrite septique ou autres infections ostéoarticulaires associées ou non à des bactériémies. Concernant la tigécycline les auteurs mentionnent que des études supplémentaires sont nécessaires afin d'établir son efficacité contre le SARM (P-E.Charles et al 2017).

III.3.4. *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides :

L'émergence de *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides a été longtemps redoutée (M-L.Joly-Guillou 2004). L'incidence accrue des infections à SARM a entraîné une utilisation accrue de la vancomycine et a entraîné l'émergence de *S. aureus* présentant une sensibilité réduite à la vancomycine (H-C.Merza 2017).

III.3.4.1. Définition des souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides :

Le terme glycopeptide fait référence à un groupe d'agents antimicrobiens qui comprend la vancomycine et la téicoplanine. Comme les deux premiers isolats VISA (vancomycine- *S. aureus* intermédiaire) aux États-Unis étaient également résistants à la téicoplanine, le terme glycopeptide-intermédiaire *S. aureus* (GISA) a été utilisé pour indiquer ce profil de résistance plus large. (CDC 2010).

Les termes vancomycine- *S. aureus* intermédiaire (VISA) et glycopeptide-*S. aureus* intermédiaire (GISA) ont tous deux été utilisés dans la littérature. Comme de nombreux isolats VISA ont également été intermédiaires à la glycopeptide téicoplanine, le terme GISA peut être plus précis. Cependant, l'acronyme VISA est plus fréquemment utilisé. Diverses études ont associé la présence de VISA et de VISA hétérogènes (hVISA) à l'échec du traitement à la vancomycine (H-C.Merza 2017).

Ainsi, Les souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides se répartissent en trois catégories :

- Les GRSA/ VRSA (glycopeptides /Vancomycine résistants *S. aureus*) sont des *S.aureus* qui ont des CMI vis-à-vis des glycopeptides supérieures à 16mg/L. Haut niveau de résistance ;
- Les GISA (glycopeptides intermédiaires *S. aureus*) sont des *S. aureus* qui ont des CMI vis-à-vis des glycopeptides comprises entre 4 et 16 mg/L. Souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides, constituées de population homogène (la majorité de la population est de sensibilité diminuée) ;
- Et, enfin les hétéro-GISA/VISA sont des *S. aureus* dont les CMI vis-à-vis des glycopeptides sont comprises entre 1 et 4 mg/L, mais au sein desquelles il existe des sous-populations bactériennes capables de se développer sur un milieu contenant 4 mg/L de vancomycine. Les CMI de ses sous-populations vis-à-vis des glycopeptides sont deux à huit fois plus élevées. Ce groupe est constitué de population hétérogène, une fraction de la population (10^{-6} à 10^{-9}) exprime la résistance (S.Boisset 2019 ; F-O.Mallaval et al 2003).

III.3.4.2. Mécanisme de résistance :

- hVISA et VISA :

Le VISA hétérogène semble être la phase précédant le développement du VISA. La vancomycine présente une pression sélective qui conduit à la croissance de sous-populations

de VISA, créant finalement une population uniforme de VISA (**S-L.Rong et S-N.Leonard 2010**).

L'un des changements phénotypiques les plus fréquemment observés dans les hVISA/VISA est l'épaississement de la paroi cellulaire avec une réticulation réduite des peptidoglycanes (**S-L.Rong et S-N.Leonard 2010 ; C.Sola et al 2011**).

La réduction de la réticulation du peptidoglycane entraîne une augmentation des résidus D-Ala-D-Ala libres (sites de liaison pour la vancomycine). On suppose que la vancomycine se lie à ces résidus D-Ala-D-Ala libres dans les couches externes de la paroi cellulaire épaissie et qu'elle est incapable d'atteindre son site d'action au niveau de la membrane cellulaire (**B-P.Howden 2005**).

Les molécules de vancomycine piégées dans la paroi cellulaire obstruent le réseau de peptidoglycanes et forment une barrière physique vers d'autres molécules de vancomycine. Ainsi, la collaboration de l'obstruction et de l'épaississement de la paroi cellulaire entraîne une résistance aux glycopeptides (**H-C.Merza 2017**).

Les mécanismes moléculaires de la résistance aux glycopeptides dans les hVISA/VISA ne sont pas encore clairement compris. À ce jour, aucun déterminant génétique spécifique de hVISA/VISA n'a été défini. Cependant, certains des gènes dont l'expression s'est avérée altérée dans les souches VISA comprennent *atl* (autolysine), *mprF* (phosphatidylglycérol lysyltransférase), *sceD* (transglycosylase), *sarA*, *sigB*, *tcaA* et *ddh* (**D.Samanta et M-O.Elasri 2014**).

En outre, des mutations associées au phénotype de résistance intermédiaire ont été identifiées dans les systèmes de régulation à deux composants [*vraSR* (capteur/régulateur associé à la résistance à la vancomycine), *graSR* (capteur/régulateur associé à la résistance aux glycopeptides), *walKR*], et le gène *rpoB* (ARN polymérase) (**S.Deresinski 2013**). On pense que la physiologie cellulaire des hVISA/VISA est modifiée en raison des effets cumulatifs des mutations et/ou de la modulation des systèmes de régulation (**G.Sakoulas et R-C.Moellering 2008**). En conséquence, la modification de la structure de la paroi cellulaire et du métabolisme résultant de multiples modifications génétiques semble être responsable de la résistance intermédiaire aux glycopeptides (**H-C.Merza 2017**).

- **VRSA :**

Le mécanisme de résistance à la vancomycine des souches de VRSA est différent de celui des souches de VISA/hVISA. Le complexe du gène *vanA*, qui confère une résistance élevée aux glycopeptides dans les Entérocoques, a été détecté dans des isolats du VRSA (**H-C.Merza 2017**).

III.3.4.3.Epidémiologie :

Après 45 ans d'utilisation de la vancomycine, une souche de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides, associée à un échec thérapeutique par la vancomycine, est isolée chez un patient hospitalisé dans un hôpital japonais (**M-L.Joly-Guillou 2004**).

L'émergence d'isolats de VISA au Japon, aux États-Unis, en France, à Hong Kong et en Corée parmi les isolats cliniques de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (MRSA) est très préoccupante (**J.Liñares 2001**).

Depuis l'identification des premières souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides au Japon, ce type de résistance a été retrouvé partout à travers le

monde (**B-P.Howden et al 2010**). Les études épidémiologiques de cette résistance parmi les SARM ont rapporté des prévalences très variables entre 0.7% et près de 50% avec une médiane d'environ 10%. En France, une étude réalisée à Limoges a évalué la prévalence des souche h-VISA à 11% (**F.Garnier et al 2006**).

La véritable prévalence de hVISA est inconnue, et les estimations varient considérablement en raison de méthodes de détection non standardisées ou de l'absence de dépistage systématique de l'hVISA, de la variation de l'interprétation, du cadre clinique, de la région géographique et des différentes populations de patients (**D-M Gomez et K-E.Ward 2015**).

* **En Algérie:** selon les différents rapports du Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (AARN) aucune souche de Staphylocoque de sensibilité diminuée aux glycopeptides n'a été isolée en Algérie (**AARN/ <http://www.sante.dz/aarn>**).

III.3.4.4.Méthodes de détection des GISA/VISA:

III.3.4.4.1.Méthodes de détection de GRSA/ VRSA et GISA/VISA :

Selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale, pour déterminer la sensibilité des Staphylocoques à la vancomycine, la détermination de la CMI doit être effectuée pour toutes les souches. La méthode de diffusion des disques ne permet pas de différencier les souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la vancomycine des souches de sensibilité diminuée (intermédiaires) (**K.Rahal et al 2014**).

Le disque de vancomycine (30µg) permet la détection des souches de *S.aureus* de phénotype vanA (VRSA); ces souches ne présentent aucun diamètre d'inhibition autour du disque de vancomycine (< 6mm).L'identification de telles souches devra être confirmée.

Toute souche de *S.aureus* dont la CMI de la vancomycine $\geq 8\mu\text{g/ml}$ doit être envoyée à un laboratoire de référence (**K.Rahal et al 2014**).

Pour déterminer la sensibilité des Staphylocoques à la teicoplanine, utiliser la méthode de diffusion des disques (**AnnexeI**) (et/ou la détermination de la CMI en présence des signes d'alerte suivants:

- Diamètre < 14mm pour la teicoplanine.
- Une différence de 3mm (au moins) entre les diamètres d'inhibition de la vancomycine et la teicoplanine.
- Présence de colonies dans les zones d'inhibition de la vancomycine et/ou teicoplanine.
- Interactions (synergie ou antagonisme) entre les disques de glycopeptides et l'oxacilline 5 µg.
- Résistance de la souche à la méticilline, à la gentamicine ou à la rifampicine.
- Lors d'infections sévères (**K.Rahal et al 2014**).

La mise en évidence des résistances aux glycopeptides se fait en deux étapes :

- Etape de screening ou criblage.
- Test de confirmation.

i. Etape de screening ou criblage :

Le tableau ci-après rapporte les 3 techniques pouvant être utilisées pour le screening de la résistance aux glycopeptides. Une, au moins, des 3 techniques suivantes doit être utilisée (K.Rahal et al 2014):

Milieu	Technique	Interprétation(+)	Témoin(+)	Témoin(-)
BHI agar + 6µg/ml vancomycine	Spot de 10µl d'une suspension 0.5MF/ 24h à 35°C± 2°C	≥2 colonies	<i>S.aureus</i> ATCC25923 Sensible	<i>E.faecalis</i> ATCC 51299 Résistant
MH agar + 5µg/ml teicoplanine	Spot de 10µl d'une suspension 2MF/ 24h à 35°C± 2°C	≥4 colonies	<i>S.aureus</i> ATCC25923 Sensible	<i>E.faecalis</i> ATCC 51299 Résistant
BHI agar	E-test modifié Ecouvillonnage avec une suspension à 2MF/24 à 48H 35°C± 2°C	VAN et TEC ≥8µg/ml ou TEC seule ≥12µg/ml	<i>S.aureus</i> ATCC25923 Sensible	<i>E.faecalis</i> ATCC 51299 Résistant

Tableau N°II : Les techniques utilisées pour le screening de la résistance aux glycopeptides (K.Rahal et al 2014).

ii. Test de confirmation :

Se base sur la détermination des CMI. Ce test de confirmation est obligatoire devant tout test de criblage positif.

- CMI par dilution en milieu gélosé, avec un inoculum de 0.5 MF dilué au 1/10^{ème} puis ensemercer 1 à 2 µl par spot, sur MH agar et incubé 24h.
- E-test sur gélose MH avec un inoculum de 0.5 MF et incubé 24h.

Antibiotiques	Concentrations critiques (µg/ml)			Souches témoins
	Sensible	Intermédiaire	Résistant	
<i>S.aureus</i> Vancomycine Teicoplanine	≤2 ≤8	4-8 16	≥16 ≥32	<i>S.aureus</i> ATCC 25923 (sensible) <i>E.faecalis</i> ATCC51299 (résistante)

Tableau N°III : Les CMI de *S.aureus* aux glycopeptides (Vancomycine, teicoplanine) (K.Rahal et al 2014).

III.3.4.4.2.Méthodes de détection des hétéro-GISA/VISA :

La détermination de la CMI ne permet pas d'identifier les souches hétéro-VISA pour ce faire, il faut une analyse de population (pratiquée au niveau d'un laboratoire de référence).

A défaut, les critères qui font suspecter une souche hétéro-VISA sont les suivants:

- CMI de la vancomycine = 4mg/l en E-test.
- Sensibilité à la vancomycine (CMI = 2 ou 4mg/l) et réponse limite à la teicoplanine (CMI = 8mg/l) en E-test (K.Rahal et al 2014).

La méthode de référence pour la détection des h-VISA est l'analyse de population qui a été décrite par Wootton et al. en 2001. Cette méthode consiste à ensemencer un fort inoculum sur des géloses cœur-cervelle contenant des concentrations croissantes de vancomycine (M.Wootton et al 2001).

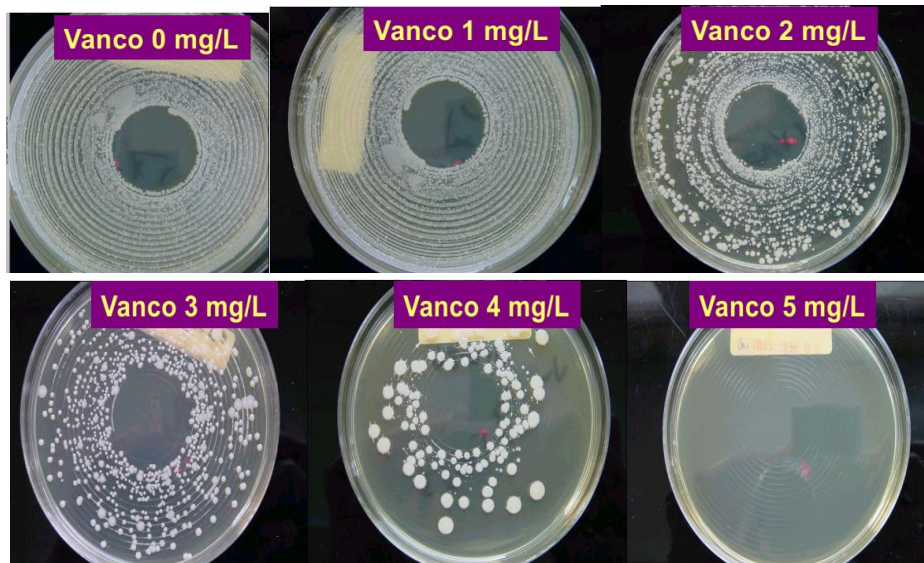


Figure N°7 : Analyse des populations sur milieu BCC avec Vanco 0-6 mg/l : 2McF, 48h (O.Dumitrescu 2016).

III.3.4.5.Traitement :

L'émergence d'isolats cliniques de hVISA/VISA a suscité la recherche de nouveaux antibiotiques. Bien qu'il n'existe pas de lignes directrices concernant les thérapies antimicrobiennes alternatives, il existe un certain nombre d'agents antimicrobiens qui pourraient être utilisés dans le traitement des infections par (VISA) dont; la daptomycine, la linezolid, la tigecycline, ceftaroline et ceftobiprole (H-C.Mirza 2017).

Parmi les autres antimicrobiens potentiellement actifs figurent les lipoglycopeptides (dalbavancine, oritavancine, télavancine), la quinupristine-dalfopristine, la rifampine et l'acide fusidique. Cependant, la résistance se développe rapidement avec une monothérapie à la rifampine ou à l'acide fusidique. Ces agents doivent donc être utilisés en association avec un autre agent antistaphylocoque. La combinaison de la rifampine et de l'acide fusidique est une option efficace (H-C.Mirza 2017).

Des études suggèrent également le potentiel d'une activité synergique entre la vancomycine et divers antimicrobiens, y compris les bêta-lactamines et la gentamicine, contre *S. aureus* avec une sensibilité réduite à la vancomycine (S-L.Rong et S-N.Leonard 2010).

III.4.LES ENTEROBACTERIES :

III.4.1.Rappel:

La famille des *Enterobacteriaceae* est une très vaste famille qui représente près de trois quarts des isollements d'un laboratoire de bactériologie médicale ; ce sont pour la plupart des hôtes du tractus digestif de l'homme et des animaux d'où leur nom mais sont aussi largement retrouvées sur les plantes, le sol et l'eau (F.Denis et al 2011).

C'est une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathologie et de leur écologie; dans la pratique clinique les espèces les plus couramment rencontrées sont *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp*, *Serratia spp*

Les bactéries appartenant à cette famille, sont des bacilles à Gram négatif, aéro- anaérobies facultatifs, mobiles avec une mobilité péritriche ou immobiles, asporulés, peuvent être cultivés dans des milieux ordinaires, ne possèdent pas d'oxydase, réduisant les nitrates en nitrites et fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, et possèdent une catalase.

L'étude de leurs caractères biochimiques ou antigéniques permet de les distinguer (**E.Zogheib et H.Dupont 2005**).

III.4.2.Résistance naturelle :

Les Entérobactéries possèdent des résistances naturelles vis-à-vis de grandes familles des antibiotiques hydrophobes ; cette famille et comme toute les bactéries à Gram négatif (BGN) sont résistantes naturellement aux : pénicilline G, oxacilline, macrolides (érythromycine), lincosamides (lincomycine), streptogramines (pristinamycine), acide fusidique et les glycopeptides (vancomycine) (**K.Rahal et al 2014**).

Le comportement des Entérobactéries vis-à-vis de plusieurs bêtalactamines a permis de caractériser dans les années 1980, quatre phénotypes de résistance naturelle réparti en 4 groupes de G1 à G4: G1 (sensible), G2 (pénicillinase de bas niveau), G3 (céphalosporinase) et enfin G4 (pénicillinase + céphalosporinase). L'identification de nouvelles bêtalactamases produites par certaines espèces d'Entérobactéries a amené à proposer jusqu'à sept phénotypes de résistance naturelle allant de G0 à G6 (groupe 0 au groupe 6) comme l'indique le tableau au niveau de l'annexe III(**A.Philippon et G.Arlet 2012**).

III.4.3.Les Entérobactéries sécrétrices de bêtalactamase à spectre élargi "EBLSE":

III.4.3.1.Mécanismes de résistance :

Les Entérobactéries ont la capacité de produire des enzymes, les bêta-lactamases qui inactivent les bêta-lactamines par ouverture du cycle bêta-lactame (**E.Zogheib et H.Dupont 2005**).

Les BLSE sont des enzymes à large spectre, appartenant en majorité aux classes A de la classification d'Ambler et 2^{be} de Bush-jacoby-Medeiros ; Certains auteurs considèrent également les bêtalactamases des classes D et 2^{de} (de type OXA) comme des BLSE (**D.Vodovara et al 2013**).

Les gènes codant pour ces enzymes sont principalement situés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons...), expliquant la rapidité de leur diffusion. (**Z.Baba Ahmed-Kazi Tani et G.Arlet 2014 ; N.Grall et al 2011**).

Elles confèrent une résistance à toutes les pénicillines, aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} ; elles sont inhibées par l'acide clavulanique et à l'inverse les EBLSE restent habituellement sensibles aux céphamycines (céfoxitine) et aux carbapénèmes. Cependant, le phénotype de résistance varie avec la nature de la BLSE produite et selon leur niveau de production (**Annexe III**) (**CSS 2017 ; F.Robina et al 212**).

Les Entérobactéries produisent plusieurs types de BLSE :

❖ BLSE de type TEM :

Les BLSE de type TEM (Temoniera, nom du patient) est fréquemment retrouvés chez *E.coli* et *Klebsiella pneumoniae*. La majorité de ce type de BLSE dérive des mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2) qui rendent l'enzyme capable d'hydrolyser les C3G (V.Cattoir 2008).

❖ BLSE de type SHV :

Les BLSE de type SHV (Sulphydryl variable) ont été détectées parmi de nombreuses Entérobactéries notamment *K.pneumoniae*(V.Cattoir 2008 ; L.Poirel et al 2008).

❖ BLSE de type CTX-M :

Les BLSE de type CTX-M (Céfotaximases-Munich) hydrolysent préférentiellement le céfotaxime, d'où leur nom céfotaximases. Elles confèrent une résistance marquée au céfotaxime. Il semble qu'elles dérivent des céphalosporinases chromosomiques des bactéries du genre *Kluyvera*, qui sont des Entérobactéries non pathogènes environnementales (V.Cattoir 2008).

❖ BLSE de type OXA:

Les BLSE de type OXA (Oxacillinase) sont caractérisées par une grande activité catalytique vis-à-vis des pénicillines M (oxacilline, cloxacilline). Les oxacillinases hydrolysent la céftazidime mieux que le céfotaxime (V.Cattoir 2008).

Il existe d'autres types de BLSE mais qui sont très rares.

- BLSE type PER (Pseudomonas extended resistance) ;
- BLSE de type VEB, l'enzyme VEB-1 (Vietnamiense extended-spectrum bêta-lactamase-1) ;
- BLSE type GES (Guyana extended-spectrum bêta-lactamase);
- BLSE type SFO (*Serratia foncticola*),
- BLSE type TLA-1 (TEM Like Activity) (V. Cattoir 2008).

Les souches d'Entérobactéries productrices de BLSE sont dans, leur très grande majorité, aussi résistantes aux autres familles d'antibiotiques, notamment aux fluoroquinolones et au cotrimoxazole (M-H.Nicolas-Chanoine 2012).

III.4.3.2.Epidémiologie :**❖ Réservoir :**

Les Entérobactéries (particulièrement les E-BLSE) sont parmi les souches les plus fréquemment isolées chez les patients hospitalisés où le tube digestif est le principal réservoir de celle-ci (D.Lepelletier et al 2015).

La flore digestive est le principal réservoir d'Entérobactéries et parmi celles-ci, *E. coli* est l'espèce prédominante. Dans les infections communautaires à EBLSE, un portage digestif associé est retrouvé dans environ 70 % des cas. L'estimation du portage digestif d'EBLSE permet d'apprécier la diffusion d'EBLSE dans la population (F.Janvier et al 2011).

Par ailleurs, les souches productrices de BLSE sont présentes dans l'environnement et particulièrement dans les effluents qui ont un rôle important dans leur dissémination. Une étude menée à Besançon a montré parmi les souches *E.coli* retrouvées dans l'environnement, un taux de BLSE de 7,6% dans les effluents hospitaliers et de 0,10% dans les effluents

communautaires (C.Bréchet et al 2014). L'eau contaminée souvent utilisée pour arroser les plantes peut expliquer la présence de souches BLSE dans les fruits et légumes rapportée par plusieurs auteurs (R.Ruimy et al 2010 ; T.Prado et al 2008).

❖ **Mode de transmission :**

En milieu hospitalier l'utilisation d'antibiotiques chez le patient porteur de souches BLSE favorise la sélection des souches résistantes qui peuvent être à l'origine d'infections souvent graves. De plus, la multiplicité des actes réalisés chez le patient et le non-respect des règles d'hygiène au cours des soins contribuent à la dissémination des germes résistants (A.Ndir 2015).

Les personnes porteuses de souches BLSE définies comme des cas index peuvent ensuite transmettre ces souches à leur entourage. Plusieurs auteurs ont montré un taux de portage fécal de souches BLSE chez les membres de la famille de cas index variant de 15.6% à 42% (A.Valverde et al 2008 ; J.Rodriguez-Bano et al 2008).

Egalement, Les aliments représentent une voie principale de transmission des souches productrices de BLSE de l'animal à l'homme. Par ailleurs, des souches d'*E.coli* BLSE trouvées chez des éleveurs de porcs et de volailles suggèrent que l'exposition professionnelle par des contacts avec des animaux porteurs de souches productrices de BLSE est également une voie de transmission de ces souches de l'animal à l'homme (R-J.Mesa et al 2006).

❖ **Donnés épidémiologiques :**

- **Dans le monde :**

Les bêtalactamases à spectre élargi (BLSE), découvertes initialement chez les souches de *K.pneumoniae* en Allemagne en 1983 puis en France, puis en Tunisie, sont des enzymes de classe A plasmidiques qui présentent un fort potentiel de diffusion à travers le monde (CCLin 2017).

Les EBLSE sont largement reportées dans le monde, les réseaux de surveillance révèlent un taux d'incidence des Entérobactéries BLSE variable selon le pays (R.Canton et T-M.Coque 2006).

Les données de surveillance de l'antibiorésistance publiées par l'organisation mondiale de la santé (OMS), mettent en évidence que les EBLSE les plus souvent signalées sont *E.coli*, *K.pneumoniae* (OMS 2018).

- **En Amérique :**

Dans un rapport de 2013 du CDC, on faisait état de 140000 infections nosocomiales dues à des Entérobactéries desquelles 19 %, étaient des EBLSE+ (CDC 2013).

- **En Europe :**

La prévalence des souches productrices de BLSE est plus élevée dans les pays du sud ou de l'est de l'Europe que dans les pays de nord, le réseau de surveillance de la résistance bactérienne en Europe (EARSS) a montré une croissante évolution de la proportion de *E.coli* et de *K.pneumoniae* résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération depuis les années 2002. En 2013, les données de surveillance ont révélé de fortes disparités entre les pays avec un taux de prévalence d'*E.coli* variant de 5% (Islande) à 38.9% (Chypre) et un taux de *K.pneumoniae* variant de 0% (Islande) à 70.1% (Grèce).

(http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/database/Pages/database.aspx).

En France, l'incidence des EBLSE a augmenté de 17 cas d'EBLSE pour 100000 journées d'hospitalisation en 2006 contre 71 cas en 2016 (EARS-Net BMR-Raisin via France 2017).

- **Au Maghreb:**

On cite le cas du Maroc au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech; Les Entérobactéries BLSE étaient les BMR les plus fréquemment isolées (65,11 %) (Z.Amhal 2017).

- **En Algérie :**

Les E-BLSE en Algérie font l'objet d'un programme de surveillance mené par l'A.A.R.N (Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques). Le taux des E-BLSE des années allant de 2014 à 2017 isolées à partir des prélèvements de patients hospitalisés tous services confondus et les patients hospitalisés aux seins de services de réanimation enregistrés par ce réseau, sont présentés dans le tableau ci-dessous.

	Pourcentage des EBLSE chez les patients hospitalisés	Pourcentage des EBLSE en service de la réanimation
2014	33.66%	43.73%
2015	29.47%	44.16%
2016	30.39%	37.25%
2017	23.39%	28.63%

Tableau N°IV : Pourcentage des EBLSE entre 2014 et 2017 en Algérie.

(A.A.R.N ; Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 2014 à 2018).

III.4.3.3.Méthodes de détection des EBLSE:

III.4.3.3.1.Méthodes phénotypiques :

La détection phénotypique de la BLSE garde son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière (K.Rahal et al 2014).

Les BLSE entraînent une diminution de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et des monobactames (azétronam), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes. Donc pour les Entérobactéries après l'antibiogramme (**Annexe I**) on recherche une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes: Céfotaxime (CTX < 27mm) ou Céftriaxone (CRO < 25mm) (K.Rahal et al 2014).

a) Test de synergie :

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Amler) sont inhibées par les inhibiteurs de bêta-lactamase (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam) (K.Rahal et al 2014).

Principe :

Le disque contenant de la céfotaxime (CTX) ou Céftriaxone (CRO) et celui contenant l'amoxicilline / acide clavulanique (AMC) sont placés à une distance de 30mm l'un de l'autre. La zone d'inhibition autour du disque de céfotaxime (ou céftriaxone) est augmentée en direction du disque d'acide clavulanique, ce qui indique une synergie entre la céfotaxime (ou céftriaxone) et l'acide clavulanique (K.Rahal et al 2011).

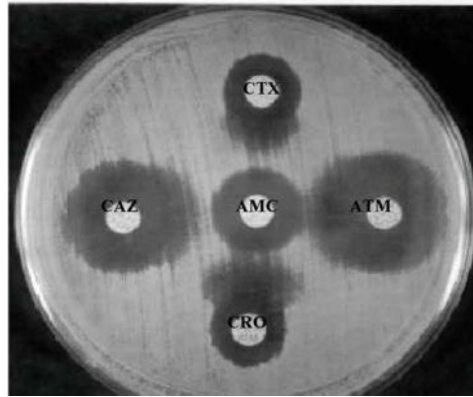


Figure N°8 : Souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu (Test de synergie) (K.Rahal et al 2014)

b) Test du double disque (Test d'espagnol):

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, cefazoline avec un diamètre < 6mm, par contre l'AMC présente un diamètre d'inhibition (K.Rahal et al 2014).

Principe :

Ce test consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G, précédé par l'application d'un disque contenant l'AMC, comparé à un autre disque portant la même céphalosporine et placé coté à coté sur la gélose de Mueller-Hinton (MH) (K.Rahal et al 2005).

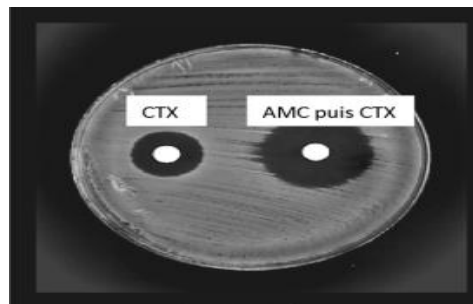


Figure N°9 : *K.pneumoniae* productrice de BLSE (Test du double disque positif). (K.Rahal et al 2014)

c) Test à la cloxacilline :

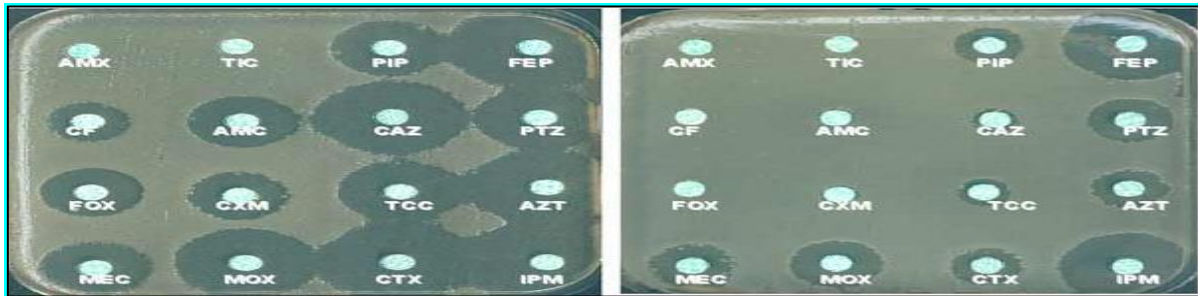
Pour certaines souches de bacilles à Gram négatif, il est parfois difficile de distinguer sur l'antibiogramme habituel les hypersécrétions de céphalosporinase (CHN) des BLSE (K.Rahal et al 2014).

Principe :

La cloxacilline ajoutée au milieu pour l'antibiogramme (MH), inhibe in vitro les céphalosporinases et reste inefficace sur les pénicillinases des bacilles à Gram négatif (K.Rahal et al 2014).

Lecture :

Le test à la cloxacilline est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH additionnée de cloxacilline à celui réalisé sur MH sans cloxacilline. Si un tel mécanisme de résistance est présent (BLSE) on constate au niveau des boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller-Hinton à la cloxacilline une restauration de l'activité de bêta-lactamases et apparition de l'image de synergie en bouchon de champagne recherchée (K.Rahal et al 2014).



A: Antibiogramme sur MH+ Cloxacilline

B: Antibiogramme sur MH

Figure N°10 : Antibiogramme d'une souche d'*E.coli* sur une gélose MH avec et sans cloxacilline (<http://www.microbes-edu.org/mecanisme/bla/generalites.html>)

d) E-Test BLSE :

Les E-test BLSE se présentent sous forme de double bandelette imprégnée d'un côté par un gradient de concentration d'une C3G et de l'autre côté par un gradient de concentration de la même C3G additionnée d'acide clavulanique à concentration constante (4mg/L). Le test est considéré comme positif pour toute diminution d'au moins 3 dilutions de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la C3G en présence d'acide clavulanique par rapport à la CMI de la C3G seule. L'interprétation des résultats de ce type de test est parfois délicate (P.Nordman 2010).

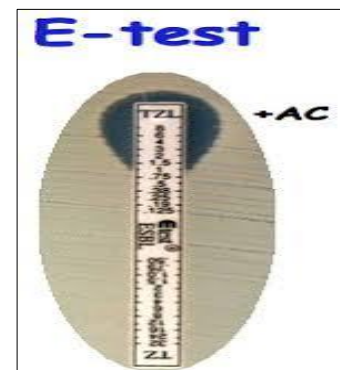


Figure N°11: E-test (Détection de BLSE) (P.Nordman 2010)

e) Milieux chromogènes de détection de BLSE :

Grâce à l'introduction de substrats chromogènes, ces milieux combinent l'isolement et l'identification des micro-organismes cibles en une seule étape, ce qui permet de raccourcir le temps de rendu du résultat. Ils sont d'une grande simplicité d'utilisation : il suffit d'observer la couleur des cultures et de noter le résultat. Le substrat chromogène contenu dans chaque milieu spécifique permet de distinguer chaque type de colonie par couleur, par exemple : les colonies de *K.pneumoniae* productrices de BLSE se distinguent par une couleur verte sur le milieu ESBL (Biomérieux). (<http://www.biomerieux.com/fr/milieux-de-culture-chromogenes-chromid-resultatsrapides-fiables-facilement-interpretables>.)

- **Gélose brilliance ESBL :**

La gélose Brilliance™ ESBL est une boîte chromogène de dépistage pour les organismes producteurs de β -lactamase à spectre étendu (BLSE). Le milieu permet une identification présomptive des *Escherichia coli* et du groupe Klebsiella, Enterobacter, Serratia et Citrobacter (KESC), producteurs de BLSE, directement à partir des échantillons cliniques (M.Leverstein-Van-Hal et Y.Glupczynski 2013).

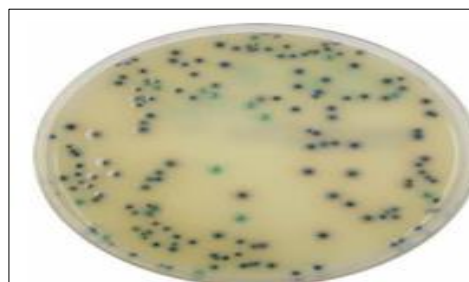


Figure N°12: Gélose Brilliance (www.oxid.com)

- L'inclusion de cefpodoxime, un marqueur largement reconnu pour la résistance liée aux BLSE, permet d'inhiber la plupart des *Enterobacteriaceae* non-BLSE.

- L'inhibition des AmpCs réduit l'incidence des résultats faussement positifs par rapport aux milieux de culture traditionnels, limitant ainsi l'emploi de tests de confirmation (M.Leverstein-Van-Hal et Y.Glupczynski 2013).

- **Gélose ChromIDESBL:**

Le chrom IDESBL est un tout nouveau et innovant milieu chromogène spécialement conçu pour la détection des Entérobactéries productrices de BLSE.

L'isolement et la détection sont basées sur l'utilisation au sein du milieu d'antibiotiques, tel que le cefpodoxime qui est reconnu comme étant le marqueur de choix pour ce mécanisme de résistance (C.Cazanave 2015).



Figure N°13 : Gélose chromID ESBL (BioMérieux-Culture Media/product-ChromID® ESBL).

D'autres milieux chromogènes pour le dépistage des Entérobactéries productrices de betalactamases a spectre élargi, sont disponibles et peuvent être aussi utilisés, à savoir :

- Gélose BLSE : développé par la société AES Chemunex.
- Gélose Chromagar E-BLSE : fournit par la société Chromagar.

Les caractéristiques des principaux milieux de chromogènes des E BLSE sont résumées dans le tableau ci-dessous :

milieux	Composition milieu ATB	Fournisseur	réactions enzymatique	remarques
BLSE Agar	boite à 2 compartiments Drigalski + CTX MacConkey + CAZ	AES Chemunex	/	incubations 18-24H milieu non chromogene
ChromIDESBL	cefepodoxime	bioMérieux	beta-glucuronidase beta glucosidase desamine	incubation 18-24H jusqu'à 48h
CHROMagarESBL	NC	CHROMagar	NC	Incubation 18-24H preparation extemporanement le milieu
Brilliance ESBL	cefepodoxime	Oxoid	galactosidase + glucuronidase galactosidase Desaminase	incubation 18-24H jusqu'à 48h

Tableau N°V : Caractéristiques des principaux milieux chromogènes des Entérobactéries BLSE (American Society of Microbiology).

f) Méthodes automatisées :

Les méthodes automatisées (Mini-Api®, Microscan, Phoenix®, Vitek®, Vitek-2®, Vitek Compact®) détectent bien les BLSE chez les souches qui n'hyperproduisent pas habituellement de céphalosporinases (*E.coli*, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*). Pour les autres espèces (*Enterobacter spp*, *Citrobacter spp*, *Serratia spp*), leur sensibilité et surtout leur spécificité sont un peu moins bonnes que celles des méthodes manuelles (**C.Émile 2008**).

III.4.3.3.2.Méthodes génotypiques:

La détection génotypique, utilise des techniques de détection de gènes plasmidiques spécifiques (CTX-M, TEM et SHV) par PCR conventionnelle, en temps réel ou multiplex (**D.vodovara et al 2013**).

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) responsables de la synthèse de BLSE (**S.Kenneth et al 2006**).

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 (**J.Gangoue-Pieboji2007**).

III.4.4.Les Entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinases ECHN:**III.4.4.1.Mécanisme de résistance :**

Initialement, les céphalosporinases étaient connues comme des enzymes chromosomiques retrouvées chez le *Pseudomonas aeruginosa* et pouvaient être induites par des antibiotiques, comme la céfoxitine, le céfotaxime et la ceftazidime. La transmission plasmidique et la promiscuité dans la famille des Entérobactéries entraînent des taux très élevés de céphalosporinases chez les *E.coli* et *K.pneumoniae* mais aussi chez les souches d'*Enterobacter* et de *Citrobacter*. L'expression de cette céphalosporinase est médiée par le gène ampC. Plus de 20 bêta-lactamases de type Amp-C différentes ont été retrouvées. (**S.Carle 2009**).

La production de cette enzyme est sous le contrôle d'un système régulateur inductible codé principalement par deux gènes : ampD, ampR; le niveau d'expression du gène ampC est contrôlé par le gène ampR, répresseur. À l'état normal, le niveau d'expression de la céphalosporinase est faible, une augmentation transitoire et réversible de la production de la céphalosporinase peut être observée en présence d'antibiotiques inducteurs comme la céfoxitine ou l'imipénème. AmpD a un effet inhibiteur sur AmpR. Des mutations dans la protéine AmpD aboutissent à l'hyperproduction constitutive d'AmpC par levée de l'inhibition du répresseur AmpR. Cette sécrétion peut être augmentée alors d'un facteur d'environ 1000 (**Z.BabaAhmed et G.Arlet 2014**).

A l'inverse des E-BLSE, qui sont inhibés par : l'acide clavulanique, tazobactam et le sulbactam, les céphalosporinases AmpC ne sont pas inhibés par ces inhibiteurs (**D-L.Paterson et R-A.Bonomo 2005**).

III.4.4.2.Epidémiologie:

L'expansion de la résistance des Entérobactéries aux céphalosporines de troisième et quatrième générations (C3G/C4G) constitue probablement l'un des faits les plus marquants des deux dernières décennies en matière d'antibiorésistance humaine et animale. Cette résistance est principalement assurée par la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et - dans une moindre mesure en Europe - de céphalosporinases plasmidiques (AmpC) (**J-Y.Madec et al 2012**).

Le premier exemple d'AmpC plasmidique découvert en 1987 est celui de MIR-1 chez *K. pneumoniae* aux États-Unis. Depuis, plusieurs céphalosporinases transférables ont été mises en évidence chez les Entérobactéries, dont la plus nouvelle est le type ACC-1, rapportée en 1999 chez une souche de *K. pneumoniae* à Kiel en Allemagne (**F.Rhimi-Mahjoubi et al 2002**).

- Aux États-Unis:

Selon une étude menée à l'hôpital Johns Hopkins à Baltimore, portant sur la prévalence et l'épidémiologie de la colonisation par les Entérobactéries multi-résistantes EMR (Enterobactéries productrices ESBL, des AmpCs à médiation plasmidique (pAmpCs) et des carbapénémases) chez des enfants admis en service de soins intensifs sur une durée allant du 16 juillet 2014 au 15 janvier 2016.

Un nombre total de 854 prélèvements rectaux a été collecté à partir de 859 enfants. La prévalence globale de la colonisation par une EMR lors de l'admission à l'USIP sur la base de l'identification du gène de la β -lactamase était de 4,3 % (n=37), dont 2,8 % d'ESBL (n=24), 1,3 % de pAmpC (n=11) et 0,2 % de carbapénémases (n=2). Parmi les 157 patients pédiatriques ayant contribué à 603 prélèvements hebdomadaires ultérieurs, 6 enfants (3,8 %) ont acquis une EMR incidente pendant leur séjour à l'USIP. Un enfant a acquis un AmpC (*E. coli*) lié à un isolat d'un autre patient (**N.Suwantarat et al 2016**).

- En Europe :

Une étude d'une durée de 3 mois (1 novembre 2012 - 31 janvier 2013) a été réalisée au niveau du service d'hémo-oncologie, Hôpital Olomouc, République Tchèque.

Des prélèvements rectaux ont été effectués chez tous les patients traités dans ce dernier.

Au cours de la période d'étude, sur les 71 patients retrouvés, un total de 15 patients (21,1%) ont été porteurs d'Entérobactéries produisant des bêta-lactamases.

Des Entérobactéries BLSE et AmpC-positives ont été trouvées dans 8 (11,3%) et 7 (9,8%) patients, respectivement. Les bactéries positives pour AmpC étaient *Citrobacter freundii* (42,8%), *Enterobacter cloacae* (28,6%), *Escherichia coli* (14,3%) et *Klebsiella pneumoniae* (14,3%) (**M.Kolar et al 2015**).

- En Algérie :

Peu d'études réalisées en Algérie pour la détermination de la résistance aux C3G par la production de CHN.

III.4.4.3.Méthodes de détection:**III.4.4.3.1.Méthodes phénotypiques :**

Ce type de résistance a été identifié dans les années 90, il est suspecté lorsqu'il existe une résistance acquise aux C3G avec un test de synergie négatif.

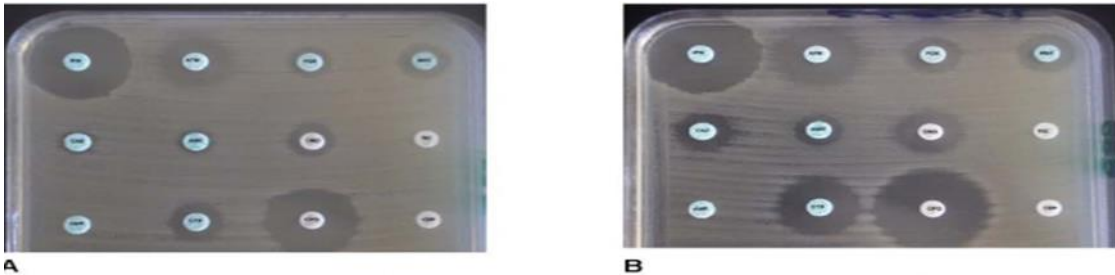
Les Casés de type AmpC sont inhibées par divers inhibiteurs tels que la cloxacilline (activité inhibitrice étroite), acide boronique, « BRL 42715 » et « Ro 48-1220 » qui ont une activité inhibitrice plus large ;

BRL 42715 : N-1 methyl-1, 2,3-triazolyl méthylène inhibiteur des enzymes plasmidiques : (TEM, SHV, OXA) et les enzymes chromosomes retrouvées chez *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp*, *Serratia spp*, *Morganella spp*, *Escherichia spp*, *Klebsiella spp* et *Porteus spp*.

Ro 48-1220 : 2 béta alkenyl penicillamic acid sulfone inhibiteur des béta-lactamases des groupes 1, 2b et 2be (**K.Rahal et al 2014**).

Plusieurs techniques sont utilisées pour la détection des CHN dont le principe est l'inactivation de cette dernière par un inhibiteur (**AnnexeIII**).

- Test à la cloxacilline (voir détection de BLSE par test à la cloxacilline).



A: Antibiogramme sur MH

B: Antibiogramme sur MH+ 0.5 mg/ml de Cloxacilline

Figure N°14 : Test à la cloxacilline sur une souche de *K.pneumoniae* BLSE (-) et CASE (+) (K.Rahal et al 2014**).**

- Méthode des 2 disques de céfoxitine et céfotétan avec inhibiteur.
- Test d'inhibition par l'acide boronique.
- Recherche à partir de l'extrait enzymatique (**K.Rahal et al 2014**).(Annexe III)

III.4.4.3.2.Méthodes génotypiques :

Les gènes de résistance aux β -lactamines (blaCTX-M et blaAmpC) ont été recherchés par PCR simplex ou multiplex. (**M.Derkaoui 2011**).

III.4.5.Traitement des Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération:

La résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération est généralement due à une production de BLSE et/ou céphalosporinase hyperproduite, ces bactéries restant sensibles à certaines molécules de la famille de β -lactamines à savoir, les carbapénèmes et les céphalosporines de 4^{ème} génération ainsi que les associations incluant un inhibiteur de β -lactamase qui ont une action sur les BLSE (**M.Choquet 2016**).

Même si les carbapénèmes semblent être les molécules de choix il conviendra de les préserver afin d'éviter l'émergence de la résistance à ces molécules (**C.Cazanave 2015**).

Privilégient l'usage d'autres antibiotiques tels que les céphamycines, céfépime, pivmecillinam, la témocilline, les associations β -lactamines-inhibiteurs β -lactamases

(BL-IBL): piperaciline et tazobactam, céftolozane et tazobactam, ceftazidime et avibactam (E.Baux-Pomarès 2015).

❖ **Association bêtalactamine-inhibiteur de bêtalactamase :**

- CEFTAZIDIME-AVIBACTAM (ZAVICEFTA®) :

Est une association de ceftazidime (céphalosporine de 3^{ème} génération) et l'avibactam un nouvel inhibiteur de bêta-lactamase non bêta-lactamine, qui est de la classe des diazabicyclooctanones et qui possède une activité inhibitrice plus large que les inhibiteurs de bêtalactamase disponibles actuellement et largement utilisée dans le traitement des infections nosocomiales sévères dues à des bactéries à Gram négatif (C.Loiez 2017).

L'avibactam inhibe les BLSE des classes Ambler A et C et certaines enzymes de classe D, les carbapénémases KPC et OXA-48 et les enzymes AmpC (céphalosporinase hyperproduite). Il n'inhibe pas les enzymes de classe B (métallo-bêta-lactamases) et n'est pas capable d'inhiber les enzymes de classe D (J.Lavigne et A.Pantel 2016).

- CEFTOLOZANE-TAZOBACTAM (ZERBAXA®) :

La ceftolozane-tazobactam est l'association d'une C5G à un ancien inhibiteur de β -lactamases. La ceftolozane avec le tazobactam permet d'être actif sur les Entérobactéries productrices de BLSE. Commercialisée en Europe et aux USA, elle est indiquée dans le traitement des infections intra-abdominales et urinaires compliquées (M.Boisson et O.Mimoz 2018).

- PIPERACILLINE-TAZOBACTAM (TAZOCILLINE®) :

La pipéracilline est une pénicilline, du type uréidopénicilline, le tazobactam est un inhibiteur de bêtalactamase il n'a pas une activité antibactérienne, c'est un dérivé de l'acide pénicillinique, qui étend le spectre d'activité de la pipéracilline en inhibant les BLSE (Haute Autorité de Santé TAZOCILLINE 2016).

❖ **Molécules en cours essais :**

- AZTRÉONAM-AVIBACTAM :

L'aztréonam-avibactam associe une monobactame (l'aztréonam) non hydrolysée par les métallo-bêta-lactamases à un inhibiteur des bêta-lactamases de classes A, C et certaines D (l'avibactam). Cette association permettrait d'assurer une efficacité sur l'ensemble des Entérobactéries. Elle est actuellement en phase de développement avec des essais cliniques de phase II en cours (H.Wright et al 2017).

- CEFIDEROCOL :

Le cefiderocol est une céphalosporine sidérophore dont le mécanisme d'action est basé sur destruction de la paroi bactérienne grâce au complexe formé avec l'ion ferrique. In vitro, il est actif sur l'ensemble des BGN (M-A.Hackel et al 2018).

Les résultats des premiers essais cliniques de phase III sont très attendus. A ce stade de développement, il est considéré comme l'une des plus grandes innovations de ces dernières années dans la lutte contre les BGN (M.Boisson et O.Mimoz 2018).

III.5.ACINETOBACTER BAUMANNII :

Acinetobacter baumannii est une bactérie opportuniste responsable d'infections nosocomiales le plus souvent dans des services accueillant des patients fragilisés comme celui de la réanimation. Il représente un problème majeur de santé dans les établissements hospitaliers

tant en termes de mortalité ou de morbidité induites qu'en termes de coûts financiers (M. Robertino et al 2010).

III.5.1. Rappel :

Le genre *Acinetobacter* est actuellement défini comme appartenant à la famille des *Moraxellaceae* qui regroupe également les genres *Moraxella* et *Psychrobacter* (A. Peleg et al 2008).

Acinetobacter baumannii est un coccobacille à Gram négatif (FIGURE N°15), non fermentaire, immobile, aérobic stricte, catalase positive et oxydase négative.

L'*Acinetobacter* croit rapidement sur les milieux nutritifs (gélose au sang de mouton ou soja tryptique) à 37 °C. (E. Bergogne- Bérézin et al 1996 ; H. Giamarellou et al 2008)

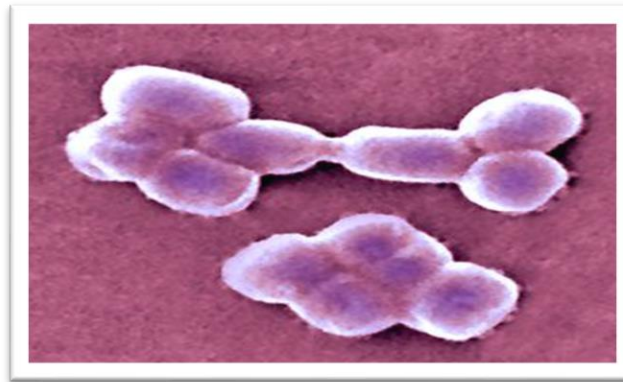


Figure N°15 : Aspect d'*Acinetobacter baumannii* au microscope électronique
(<http://www.actusoins.com/11895/une-souche-dacinetobacter-baumannii-multiresistante-se-developpe-en-france.html>)

Acinetobacter baumannii est l'espèce impliquée dans les infections nosocomiales 90% à 95 %, des *Acinetobacter* isolés des prélèvements pathologiques de patients sont des « baumannii » (MA. Pfaller et J. Segreti 2006).

Acinetobacter 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'infection de la peau et des tissus mous, d'infections urinaires, de méningites, d'endocardites, de kératites, et d'endophtalmies (A. Peleg et al 2008).

III.5.2. Résistance naturelle :

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

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

(<http://invs.santepubliquesfrance.fr/dossiers-thematique/Maladies-infectieuses/infections-associees-aux-soins/surveillance-des-infections-associees-aux-soins-IAS/Acinetobacter-resistant-a-l-imipeneme/>) .

III.5.3. *Acinetobacter baumannii* multirésistant (ABMR) :

En l'espace 40 ans, *Acinetobacter 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 » (**D. Decré 2012**).

III.5.3.1. 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). (**P.-J. Bouvet et al, 1986 ; M-E. Falagas et al 2006**).

III.5.3.2. Mécanismes de résistance :**III.5.3.2.1. La résistance à la céftazidime (CAZ-R):**

La résistance à la céftazidime chez *Acinetobacter baumannii* résulte d'une :

- Hyperproduction des β -lactamases de type céphalosporinases (*Acinetobacter* chromosomal Enzyme : ACE-1 et ACE-2) suite à une mutation chromosomique (**M.-L. Joly-Guillon 2003**). La surexpression de la céphalosporinase naturelle AmpC est liée à l'insertion d'une séquence spécifique d'insertion appelée ISAbal en amont du gène blaampC et induit une résistance additionnelle aux ureidopenicillines (pipéracilline) et aux céphalosporines de 3^{ème} génération C3G (céftazidime, céféxime, céfotaxime, céftriaxone, ...) (**T. Naas et P. Nordman 2012**).

- Production d'une bêtalactamase à spectre étendu qui confèrent une résistance à toutes les bêtalactamines sauf les carbapénèmes. Plusieurs BLSE comme PER-1, PER-7, VEB-1, TEM-92, CTX-M-2, SHV-12 SHV-5 et CTX-M-15 ont été identifiées ponctuellement ou chez des souches épidémiques (**D. Decré 2012**).

III.5.3.2.2. La résistance à l'imipénème (IPM-R) :

Le principal mécanisme de résistance aux carbapénèmes est la sécrétion de carbapénémases de type oxacillinase qui peut être quasi-spécifiques d'*Acinetobacter baumannii* (**M.-L. Joly-Guillon 2003**).

La production de carbapénémases chez *A. baumannii* est un mécanisme très inquiétant à cause de la prévalence élevée de ces enzymes, leur transmission facile via des éléments génétiques mobiles et l'association de leurs gènes codants à des gènes médiant la résistance à des ATB appartenant aux autres classes (**T.-J. Gniadek et al 2016**).

Il existe d'autres mécanismes : altération de PLP, modification de la perméabilité membranaire (modification de la structure des lipopolysaccharides) (**M.L. Joly-Guillon 2003**).

III.5.3.2.3. La résistance à la ciprofloxacine (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 (**M.-L. Joly-Guillon 2003**).

- Des systèmes d'efflux qui font intervenir les pompes à efflux (**L. Damier-Piolle et al 2008**).

III.5.3.3.Epidémiologie :

❖ Réservoir :

Bien que la plupart des espèces du genre *Acinetobacter* soient ubiquitaires (sol, eau, végétaux, hommes), *Acinetobacter baumannii* n'a pas de réservoir naturel connu en dehors de l'hôpital (A-Y.Peleg et al 2008 ; F.Denis et al 2016). Lors des épidémies hospitalières, *A. baumannii* est retrouvé dans l'environnement clinique immédiat du malade (appareils de ventilation, lit, 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, il résiste longtemps dans des conditions environnementales variées et résiste bien à la dessiccation (C.Wendt et al 1997).

❖ Mode de transmission

A. baumannii a la faculté de coloniser beaucoup de matériel hospitalier (respirateurs, humidificateurs). Il est le plus souvent transporté par les mains du personnel soignant et la majorité des infections sont acquises au décours d'une hospitalisation. (F.Denis et al 2016).

❖ Données épidémiologiques :

- Dans le monde :

Une méta-analyse sur la prévalence mondiale de l'antibiorésistance dans les infections à *A. baumannii* a démontré une augmentation rapide et importante des taux des souches résistantes aux ATB entre 2011 et 2016. (R.Xie et al 2018).

Durant la période allant de 2011 à 2016, ces souches présentaient des prévalences élevées de résistance à l'imipénème dans différents pays : 52% aux USA, 92% au Vietnam, 82% en Iran, 85% en Inde et de 82% au Mexique (R.Xie et al 2018).

- En Europe :

En 2016, plus de la moitié (55,4%) des *Acinetobacter spp* déclarés à Europe an Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) étaient résistants à au moins un des groupes d'antibiotiques sous surveillance régulière (fluoroquinolones, aminosides et carbapénèmes) et 31.7% ont été signalés résistants aux 3 groupes simultanément.

La Croatie, la Lituanie et la Roumanie enregistraient les taux les plus élevés avec (respectivement) : 94.5%, 81.6% et 85% de résistance aux carbapénèmes et 94.9%, 87.4% et 91.1% aux fluoroquinolones (EARS-Net 2017).

La Grèce est également un des pays européens enregistrant des taux annuels trop élevés de souches *A. baumannii* résistantes et multirésistantes. En 2017, les souches isolées en réanimation des hôpitaux grecs étaient à 98.1% résistantes à l'imipénème, 92.6% à la céftazidime et 97.4 % à la ciprofloxacine. 92.3% de ces souches étaient des MDR (WHONET Grèce 2019 <http://www.mednet.gr/whonet/>).

- Au Maghreb :

*Au Maroc :

Une étude au niveau de l'hôpital militaire de Meknès a rapporté les taux suivants de résistance chez *A. baumannii* : 85% des souches isolées étaient résistantes à la ceftazidime et à la céfépime, 72.5% à l'imipénème et 75.5% à la ciprofloxacine. 50% de ces souches étaient des MDR dont 45% provenaient de service de réanimation (S.Wafi 2017).

***En Algérie :**

Selon le 17^{ème} rapport du réseau Algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques (AARN), les souches *Acinetobacter spp* testées en 2016, par les laboratoires membres d'AARN ont montré les taux suivants de résistance : 80.5% à la céftazidime, 78.5% à la ciprofloxacine, 67.68% à l'imipénème et 1.05% à la colistine. Les services de réanimation présentent un taux de résistance élevé à l'imipénème, un pourcentage de 72.20% (AARN 2017).

La résistance globale chez les patients hospitalisés en 2017 pour : *Acinetobacter baumannii* CIP-R est de l'ordre de 76.27 %, *Acinetobacter baumannii* IMP-R est de l'ordre de 77 % et 17.11 % pour *Acinetobacter baumannii* producteur de BLSE. Avec une augmentation des taux d'ABMR en réanimation par rapport à l'année 2016, avec des taux de 88.27% *A. baumannii* CIP-R, de 85.65% pour *A. baumannii* IPM-R et de 27.11% d'*A. baumannii* productrice de BLSE (AARN 2018).

III.5.3.4.Méthodes de détection :**III.5.3.4.1.Méthodes phénotypiques :****a) Antibiogramme par méthode de diffusion sur milieu gélosé :**

Détermination de la sensibilité aux antibiotiques par technique de diffusion sur milieu gélosé (Annexe I).

b) Détection des mécanismes de la résistance acquise aux C3G (ceftazidime) :

La détection des mécanismes de résistance acquise aux C3G (CAZ) se fait par la recherche des BLSE et de la céphalosporinase hyperproduite.

- **BLSE :**

La recherche de BLSE est indiquée devant un diamètre d'inhibition (à l'antibiogramme) autour de la céftazidime (CAZ) < 22mm (K.Rahal et al 2014).

La détection des BLSE se fait comme pour les Entérobactéries (voir détection de BLSE Entérobactéries) par :

- Le test de synergie et le test du double disque en utilisant un C3G , la céftazidime (CAZ), et la ticarcilline +acide clavulanique (TCC)(K.Rahal et al 2014).



Figure N°16 : Test de synergie positif (Bouchon de champagne) (M.I. Mirabaud 2003).

- E-test : les bandelettes E-test présentent d'un côté un gradient de ceftazidime, ou de céfépime et de l'autre côté un gradient de la même molécule associée à l'acide clavulanique (4 mg/L) (D.Elhani 2012).
TZ : CAZ, TZL : CAZ + Clavulanate.

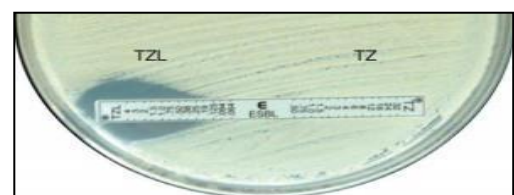


Figure N°17 : E-Test BLSE positif. (S. Harada 2008)

- **Céphalosporinase hyperproduite :**

La recherche de la céphalosporinase hyperproduite se fait par le test à la cloxacilline (voir détection de BLSE par test à la cloxacilline, Entérobactéries)(K.Rahal et al 2014).

c) **Détection des mécanismes de résistance acquise aux carbapénèmes :**

La recherche des carbapénémases chez *A. baumannii* est indiquée dans les situations suivantes :

- Une sensibilité diminuée aux carbapénèmes (imipénème et/ou méropénème) révélée par un diamètre d'inhibition à l'antibiogramme ≤ 22 mm.
- Présence des colonies discrètes dans la zone d'inhibition des carbapénèmes sur l'antibiogramme.
- Une CMI déterminée par E-test pour les molécules méropénème et imipénème ≥ 2 µg/ml. (N. Grall et al, 2011 ;K.Rahal et al 2014).

Plusieurs méthodes phénotypiques sont utilisables pour la détection des carbapénémases :

- **Test de Rosco :**

Permet la mise en évidence des différents mécanismes de résistance aux carbapénèmes (Annexe IV) (K.Rahal et al 2014).

Dont l'avantage la possibilité de détecter et identifier le mécanisme à l'origine de la résistance aux carbapénèmes (A.Birgy et al 2012).

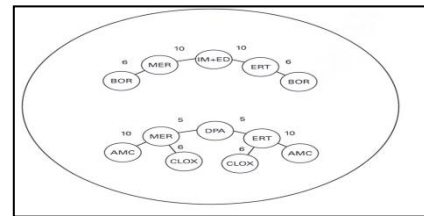


Figure N°18: Test de Rosco (K.Rahal et al 2014).

- **Test de Hodge modifié :**

Depuis de nombreuses années, le test de Hodge modifié est utilisé pour l'identification de la production in vivo d'une carbapénémase. Ce test est basé sur la mise en évidence d'une synergie d'activité enzymatique entre souches productrices de carbapénémases (souche à tester) et souches sauvages de référence sensibles (Annexe IV)(E.Temkin et al 2014 ; L.Poirel et al 2013).

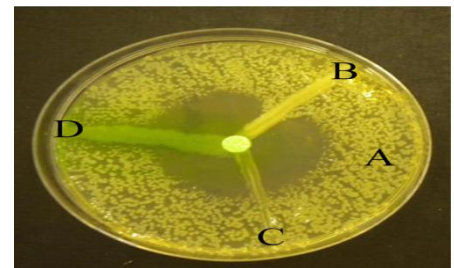


Figure N°19: Test de Hodge modifié (N.Grall et al 2011).

- **Test de disque combiné (CDT) :**

Ce test repose sur les différences entre le diamètre de zone d'inhibition d'un disque de carbapénème (dans la plupart des cas méropénème ou imipénème) par rapport à celui produit par un disque contenant une combinaison d'un carbapénème et d'un inhibiteur (EDTA pour MBL) (A. Aguirre-Quinonero et L. Martínez-Martínez 2017).

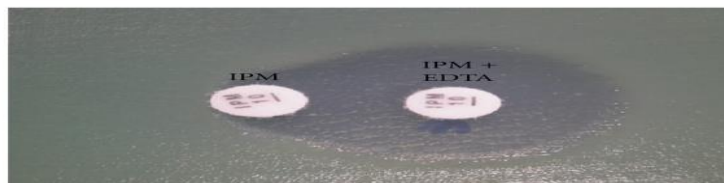


Figure N°20 : Test à l'EDTA positif (<https://www.hindawi.com/journals/tswj/2012/654939/>)

- **Carba NP test (Carba Nordmann-Poirel test):**

Le principe de ce test repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. L'indicateur de pH change de couleur (du rouge au jaune) lorsque le milieu devient acide, traduisant la présence d'une carbapénémase. Ce test possède une excellente spécificité et une excellente sensibilité de détection de toutes les carbapénémases (L.Dortet et al 2016).

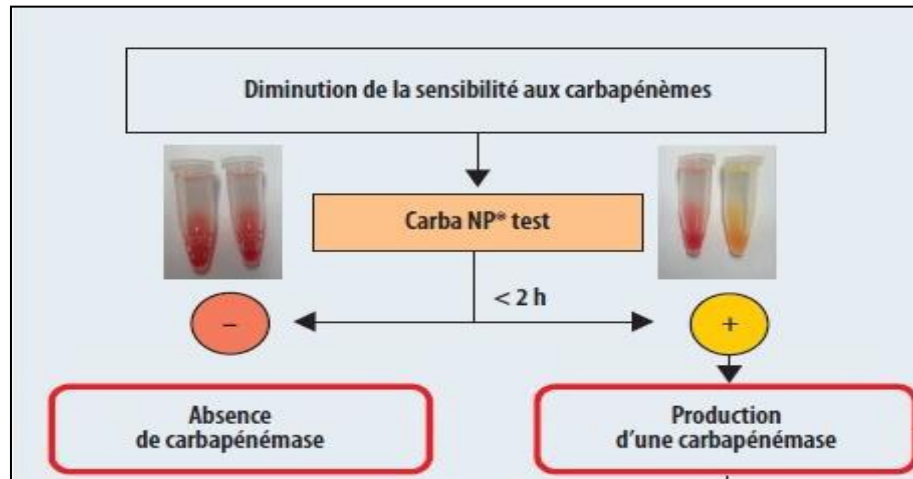


Figure N°21: Carba NP test positif et négatif (L.Poirel et al, 2013).

- **Spectrophotométrie :**

La détection de l'activité carbapénémase peut également être réalisée par spectrophotométrie UV (S.Bernabeu et al 2012). Différentes techniques utilisant la spectrométrie de masse (MALDI-TOF) ont été développées pour la détection d'une activité carbapénémase. Ces techniques sont basées sur la détection par MALDI-TOF de la dégradation d'une carbapénème et de l'apparition de son métabolite hydrolysé après 3 à 5 h de mise en contact (en milieu liquide) avec la bactérie à étudier.

Cette technique est sensible (100 %), spécifique (98,5 %), peu onéreuse (hors coût matériel) capable de détecter tout type de carbapénémase. Cependant, elle nécessite du personnel entraîné (L.Dortet et al 2013).

d) Détection de mécanismes de résistance acquise aux fluoroquinolones :

L'expression de la résistance acquise aux fluoroquinolones, même si elle est croisée, est variable d'une fluoroquinolone à une autre. Il est recommandé de déterminer la CMI de la molécule potentiellement utilisable en thérapeutique. En pratique, il est recommandé d'au moins tester l'activité de la ciprofloxacine (V.Cattoir 2012).

La mise en évidence de la résistance aux fluoroquinolones par efflux est basée sur la comparaison des valeurs de CMI avant et après l'ajout d'un inhibiteur de système d'efflux phényl-arginine- β -naphthylamide (Pa β N) ou 1- (1-naphtylméthyl) -pipérazine (NMP) dans le milieu (M-H.Maleki et al 2014).

III.5.3.4.Méthodes génotypiques :

Une série d'amorces a été utilisée pour la détection des classes A, B d'Ambler, et les gènes D β -lactamase et d'autres gènes codant pour IMP, VIM, SPM-1, PER-1, TEM, VEB-1, SHV, GES-1 et CTX-M group 2 ont été recherchés par PCR en utilisant (Qiagen), avec deux paires différentes des amorces spécifiques pour chacun des blaIMP et blaVIM. Certains des produits PCR obtenus à partir d'isolats positifs ont été sélectionnés au hasard, purifiés et puis séquencés pour confirmer la présence de gènes (**M-A.Rezaee et al 2013**).

Deux protocoles de PCR multiplex ont été réalisés pour la détection des gènes de résistance aux carbapénèmes pour *A.baumannii*; un pour blaOXA-23, blaOXA-24, blaOXA-51 et blaOXA-58 et l'autre pour blaIMP, blaNMD, blaKPC, blaOXA-48. L'existence du gène blaPER-1 a également été déterminée à l'aide d'un protocole décrit par Weldhagen et al. (**B.Boral et al 2019**).

III.5.3.5.Traitement des infections à *Acinetobacter baumannii* :

Les carbapénèmes demeurent le traitement de choix devant des souches *A. baumannii* MDR (sensible aux carbapénèmes) (**Y.Haifie et al 2015 ; D.Xiaomeng et al 2015 ; G-J.German et al 2018**). Quatre molécules sont actuellement disponibles sur le marché mais seules trois d'entre elles sont actives sur *A. baumannii* (l'imipénème, le méropénème et le doripénème) (**N.Grall et al 2011 ; M.Vikas et al 2010**). Ils sont généralement utilisés en thérapie combinée, dans le but de limiter l'émergence de la résistance à ces ATBs et d'obtenir une synergie entre les molécules (**Y.Haifie et al 2015 ; D.Xiaomeng et al 2015 ; G-J.German et al 2018**).

Dans le cas des infections à *A. baumannii* résistant à imipénème, c'est la colistine qui constitue le traitement de choix (**N.Wentao et al 2014 ; Y.Haifei et al 2015**). Actuellement, elle connaît un regain d'intérêt pour le traitement, en dernier recours, des infections nosocomiales graves dues à des BGN MDR ou XDR y compris les souches productrices de carbapénémases (**I. KARAIKOS et al 2017**).

L'utilisation de la colistine pour le traitement de ces infections, a induit l'émergence de la résistance à la colistine qui représente actuellement un véritable problème de santé publique (**B. Seongman et al 2016 ; O. Alessandra et al 2017**).

III.6.PSEUDOMONAS AERUGINOSA :**III.6.1.Rappel :**

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie environnementale omniprésente qui est l'une des trois principales causes d'infections opportunistes chez l'homme. La résistance intrinsèque aux antibiotiques et aux désinfectants est un facteur important de son importance en tant qu'agent pathogène.

Elle est autrement connue sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie à Gram négatif (**Figure N°21**) non fermentaire, mobile, aérobie stricte, non capsulée, oxydase positive (**C-K. Stover et al 2000; M. David et al 2008**).



Figure N°22 : Aspect de *Pseudomonas aeruginosa* au microscope électronique(<https://www.istockphoto.com/photos/pseudomonas-aeruginosa/>)

Pseudomonas aeruginosa est ubiquitaire, se retrouve particulièrement en milieu humide. C'est une bactérie de l'environnement hospitalier par excellence(<http://docplayer.fr/10908260-mesures-de-prevention-et-de-contrôle-de-la-transmission-des-bacilles-gram-négatif-multirésistants-dans-les-milieus-de-soins-aigues-au-qubec.html>).

Est un agent pathogène opportuniste qui se retrouve dans une variété d'infection (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 (**G-B. Stover et al 1983**).

III.6.2. Résistance naturelle :

Pseudomonas aeruginosa possède un niveau élevé de résistance naturelle à la plupart des antibiotiques grâce à une perméabilité restreinte de la membrane externe, à des systèmes d'efflux qui pompent les antibiotiques hors de la cellule et à la production d'enzymes inactivant les antibiotiques, telles que les β -lactamases (**Z. Pang et al,2019**).

Pseudomonas aeruginosa est résistant aux : aminopénicilline, C2G, céfotaxime, ceftriaxone, kanamycine, tétracyclines, chloramphénicol, triméthoprime, quinolones (**K.Rahal et A .Benslimani 2011**).

P. aeruginosa exprime naturellement une céphalosporinase inductible codée par le gène chromosomique ampC, proche de celui qui est retrouvé chez les *Enterobacteriaceae* du groupe III (**P-D. Lister et al 2009**).

III.6.3. *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant «PAMR» :

III.6.3.1. Définition :

En absence d'une définition standardisée, la multi-résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* est habituellement décrite comme la résistance ou la diminution de la sensibilité à au moins trois classes d'antibiotiques actifs sur les souches sauvages (**H. Delacour et al 2011; M-D. Obritsh et al 2001**).

Un isolat de *pseudomonas aeruginosa* devrait être considéré comme multirésistant, s'il est résistant à trois des cinq agents antimicrobiens suivants : ciprofloxacine, ceftazidime ou céfépime, imipénème ou méropénème, pipéracilline-tazobactame ou pipéracilline et tobramycine (**G-J. German et al 2016**).

III.6.3.2.Mécanisme de résistance :

Les souches de PAMR cumulent constamment plusieurs mécanismes de résistance par mutations et acquisitions de gènes (F .Barbier et M.Wolff 2010) :

III.6.3.2.1.La résistance à lacéftazidime (CAZ-R):

La résistance à la céftazidime chez *P. aeruginosa* résulte d'une :

❖ Surproduction de la céphalosporinase naturelle AmpC :

Presque toutes les souches de *P. aeruginosa* produisent une β -lactamase à large spectre, dénommée AmpC (classe C d'Amblar), dont l'expression peut être induite par certaines β -lactamines comme les carbapénèmes et la céfoxitine, ou encore l'acide clavulanique. L'enzyme est faiblement produite chez les bactéries sauvages et hydrolyse, principalement les aminopénicillines (amoxicilline et ampicilline), C1G et de C2G ainsi que le céfotaxime. Cependant, la survenue de mutations dans des gènes impliqués dans le recyclage du peptidoglycane tels que *dacB*, *ampD* et *ampDH3*, ou dans le gène *ampR*, qui code pour un régulateur transcriptionnel de la famille LysR, peut entraîner la dérégulation partielle ou totale du gène *ampC*. Il en résulte une hydrolyse plus ou moins importante, selon le niveau de production de l'enzyme, de la plupart des β -lactamines à l'exception des carbapénèmes (K. Jeannot et P. Plésiat 2016).

❖ Production d'une β -lactamase de spectre étendu :

La plupart des BLSEs identifiées chez *P. aeruginosa* dérive de pénicillinases à spectre restreint (TEM, SHV, OXA) ayant acquis, sous l'effet de mutations, la propriété d'hydrolyser les C3G (céftazidime et/ou céfépime). Ces enzymes appartiennent aux classes A et D de Amblar (K. Jeannot, P. Plésiat 2016).

- **BLSEs de classe A** : cette BLSE est l'une des plus fréquemment retrouvées chez les pyocyaniques résistants à la céftazidime (**Rapport annuel du CNR-RA 2014, <http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/bilans-dactivites.html>**). Elle se caractérise par une activité hydrolytique importante vis-à-vis de la céftazidime, de l'aztréonam et du céfépime, mais faible vis-à-vis de la pipéracilline (K. Jeannot et P. Plésiat 2016).

- **BLSEs de classe D** : contrairement aux BLSEs de classe A, les BLSEs de classe D identifiées chez *P. aeruginosa* ne sont que très rarement retrouvées dans d'autres espèces bactériennes. Ces β -lactamases dénommées ES-OXA (Extended Spectrum Oxacillinases), dérivent pour la plupart de pénicillinases à spectre restreint (OXA-1, OXA-2 et OXA-10) par des mutations ponctuelles les rendant plus actives sur les C3G (K. Jeannot et P. Plésiat 2016).

P. aeruginosa est probablement l'espèce bactérienne pathogène présentant la diversité la plus large en termes de β -lactamases acquises (F. Barbier et M. Wolff 2010). Ces enzymes sont quasi exclusivement codées par des plasmides (P. Nordman et A. Carrer 2010).

III.6.3.2.2.Résistance aux carbapénèmes:

❖ L'imperméabilité :

Le principal mécanisme de résistance aux carbapénèmes chez *P. aeruginosa* reste l'imperméabilité par mutation inactivatrice d'*oprD*, gène codant la protéine D2 (P-D. Lister et al 2009). La perte de cette porine de la membrane confère une résistance de haut niveau à

l'imipénème et une diminution variable de la sensibilité au méropénème et au doripénème (F. Barbier et M. Wolff 2010).

❖ **Production de carbapénèmases :**

La très grande majorité des carbapénèmases produites par *P. aeruginosa* appartient à la famille des métallo- β -lactamases (MBL), c'est-à-dire de classe B d'Ambler. Le bacille pyocyanique n'étant pas sensible naturellement à l'ertapénème en raison de l'activité de la pompe MexAB-OprM, la résistance à cette molécule n'est pas un indicateur de production de carbapénémase. Sept types de MBLs ont été recensés chez *P. aeruginosa* : IMiPenem (IMP), Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase (VIM), Sao-Paulo Metallo- β -lactamase (SPM), Australia IMipenemase (AIM), German IMipenemase (GIM), New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM-1) et plus récemment, Florence IMipenemase (FIM). Les groupes IMP et VIM sont de loin les plus représentés en France, en Europe et dans le monde (A. Potron et al 2015).

❖ **Systèmes d'efflux :**

L'hyper expression acquise des systèmes naturels d'efflux transmembranaire est un mécanisme majeur de multirésistance chez *P. aeruginosa*. Les mutations activatrices portant sur l'opéron *MexAB-oprM* sont les plus fréquemment impliquées dans l'émergence de résistances aux β -lactamines (F. Barbier et M. Wolff 2010).

III.6.3.2.3. Résistance à la ciprofloxacine :

La résistance à la ciprofloxacine dans cette espèce est exclusivement chromosomique (F. Barbier et M. Wolff 2010). Elle se présente principalement par des mutations dans la région déterminant la résistance aux fluoroquinolones (FRDR) de GyrA qui code pour les sous-unités de l'ADN gyrase (topoisomérases II), et de parC qui code pour les sous-unités de la topoisomérase IV. Par conséquent, ces mutations et la mutation du gène régulateur d'efflux (*mexR*) sont les principaux mécanismes de résistances aux fluoroquinolones chez les bactéries Gram négatives. Les altérations des acides aminés présentés dans GyrA, parC, *mexR* sont associées à une résistance élevée à la ciprofloxacine chez *P. aeruginosa* (K. N. Nguyen et al 2018).

III.6.3.3. Epidémiologie :

❖ **Réservoir :**

Pseudomonas aeruginosa est un micro-organisme ubiquitaire hydrophile, vivant naturellement dans l'environnement. Son réservoir naturel et permanent est représenté par les sols humides, les végétaux et surtout par les eaux qu'elles soient douces, marines ou encore usées (L. Ruiz et al 2004). La colonisation humaine par *P. aeruginosa* est peu fréquente chez les sujets en bonne santé avec seulement 2 à 4 % de porteurs. Cependant, chez les sujets hospitalisés, ce taux peut atteindre 50 % voire 60 %. Le rôle de l'environnement hospitalier dans la colonisation des patients par *P. aeruginosa* est une question clé en matière de prévention des infections nosocomiales puisque la présence d'une souche dans l'environnement peut être tout autant la conséquence de la colonisation du patient qu'une source d'acquisition. De nombreuses études visant à évaluer la part des points d'eau dans la colonisation/infection des patients ont été menées. Certaines attribuent un rôle majeur aux

points d'eau sur l'incidence de la colonisation des patients dans les unités de soins intensifs (M. Trautmann et al 2001).

❖ **Mode de transmission :**

De nombreuses épidémies hospitalières à *P. aeruginosa* ont été imputées à la contamination de divers équipements et/ou matériels humides. Dans ce cas de figure, la bactérie se transmet directement à partir du réservoir aux patients sans passer par aucun intermédiaire. Quelques études anecdotiques démontrent que le personnel médical peut être également réservoir et vecteur potentiel de *P. aeruginosa* (RL.Moolenaar et al 2000).

❖ **Données épidémiologiques :**

- **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 (M-D. Obritsch et al 2004).

Pour l'ensemble des pays participant à EARS-Net, 34.7% des souches de *P.aeruginosa* transmises en 2011 sont résistantes à au moins un ATB et 15.3% à au moins trois classes d'ATB (INVS 2012).

- **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% (www.invs.santé.fr/fiche_aeruginosa_web.pdf).

Toutefois, une étude récente rapporte que 6,4% des souches « I » ou « R » à l'imipénème isolées en réanimation en France produisant une carbapénémase (VIM-1, VIM-2, VIM-4, IMP-29), ce qui est 10 fois supérieur à la prévalence des souches carbapénémase positives chez les Entérobactéries (K. Jeannot et P. Plésiat 2016).

***En Algérie :**

Selon le 16^{ème} rapport du l'AARN, les souches de *Pseudomonas aeruginosa* testées en 2015, par les laboratoires membres d'AARN ont montré les taux suivants de résistance : 15.96% à la céftazidime, 24.06% à la ciprofloxacine, 16.07% à l'imipénème. Le service de réanimation présente le pourcentage le plus élevé avec un taux de résistance à l'imipénème de 21.67%(AARN 2016).

En 2016, le Pourcentage de PAMR chez les patients hospitalisés est de : 16.64% pour *P.aeruginosa* IPM-R, 10.08% pour *P.aeruginosa* CAZ R et 11.91% pour *P. aeruginosa* CIP-R(AARN 2017).

En 2017, PAMR présente un taux de : 16.46% pour *P. aeruginosa* IPM-R, 12.16% pour *P. aeruginosa* CAZ-R, 10.67% pour *P. aeruginosa* CIP-R et 3.49% pour *P. aeruginosa* BLSE+. (AARN2018).

Les services de réanimation, ont connu une augmentation des taux de PAMR entre 2016 et 2017, allant de 9.29 à 15.60% pour *P.aeruginosa* CAZ-R, et de 11.97 à 20.18% pour *P.aeruginosa* CIP-R (AARN 2017,AARN 2018).

III.6.3.4.Méthodes de détection :

III.6.3.4.1.Méthodes phénotypiques :

a) Antibiogramme par méthode de diffusion sur milieu gélosé :

Détermination de la sensibilité aux antibiotiques par technique de diffusion sur milieu gélosé (K. Rahal 2014) (Annexe I).

b) Détection des mécanismes de la résistance acquise aux céphalosporines de 3^{ème} génération (ceftazidime) et aux carbapénèmes :

Les techniques de détection de mécanisme de résistance aux bêtalactamines chez le *P. aeruginosa* sont identiques aux techniques préconisées pour *A.baumannii*.

- La détection des mécanismes de résistance acquise aux C3G (CAZ) se fait par la recherche de la BLSE et la céphalosporinase hyperproduite.

- **BLSE :**

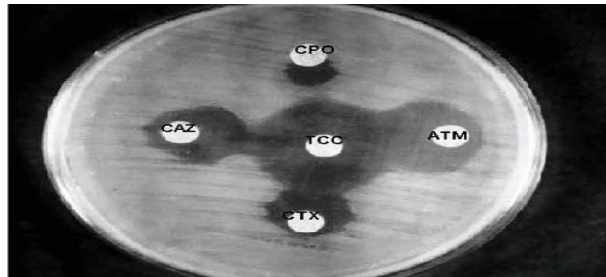


Figure N°23: Souche de *Pseudomonas aeruginosa* productrice de β -lactamase à spectre étendu (K. Rahal 2014).

La détection est plus difficile en raison de l'association avec d'autres mécanismes de résistance telle que l'hyperproduction de céphalosporinase.

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

-Le rapprochement des disques TCC (Ticarcilline+ Acide Clavulanique) (15 mm et 20 mm centre à centre) au lieu de 30 mm.

-La neutralisation de la CHN : si la souche est productrice d'une cephalosporinase hyperproduite, faire le test de synergie sur MH additionné de cloxaciline (500 mg/l à 1000 mg/l) (K. Rahal 2014).

Un test de confirmation par la technique du double disque devra être fait systématiquement devant l'absence de synergie avec diminution de diamètre des C3G(K. Rahal 2014).

- **Céphalosporinase hyperproduite :**

La recherche de la céphalosporinase hyperproduite se faite par le test à la cloxacilline (K.Rahal et al 2014)

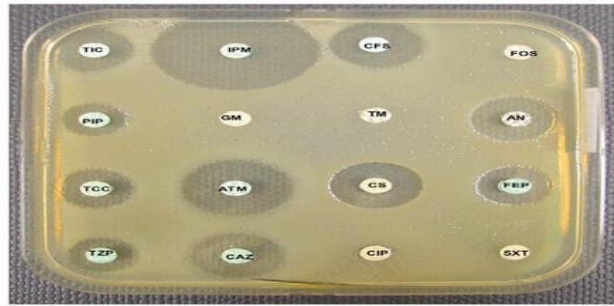


Figure N°24: Hyperproduction de céphalosporinase naturelle AmpC (A.Mérens et al 2012).

c) Détection des mécanismes de résistance acquise aux carbapénèmes :

- Détection des carbapénémases :

La détection des carbapénémases se fait par les techniques suivantes (voir détection des carbapénémases, *A.baumannii*):

- Test de Rosco;
- Test inhibition;
- Test de Hodge modifié ;
- Carba NP test (Carba Nordmann-Poirel test);
- Spectrophotométrie.

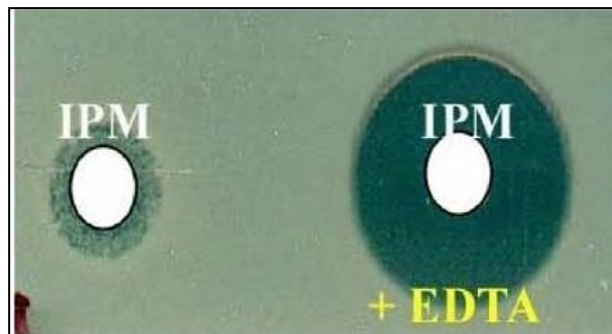


Figure N°25: *P. aeruginosa* producteur de carbapénémase de type B (K. Rahal 2014).

- Détection de mécanisme d'efflux pour les carbapénèmes :

La surproduction du système d'efflux MexAB-OprM peut être mise en évidence sur un antibiogramme par une différence de diamètre d'au moins 4 mm entre le disque d'aztréonam et de ceftazidime. Par ailleurs, une diminution de la zone d'inhibition autour des disques de fluoroquinolones ainsi que du méropénème mais pas de l'imipénème sont des arguments en faveur de ce mécanisme. Il s'agit le plus souvent de résistances de bas niveau entraînant une majoration des CMI d'un facteur 4 à 8 des différents substrats antibiotiques (Mérens.A et al 2012).

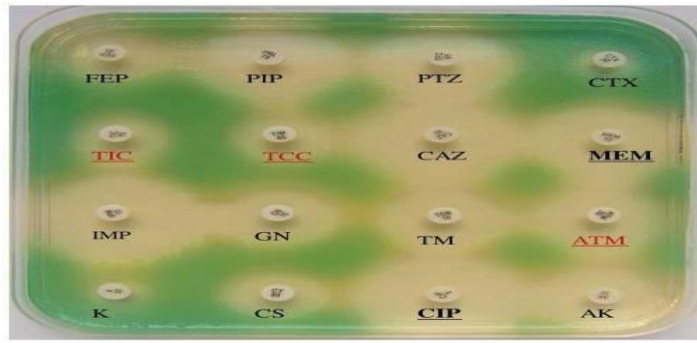


Figure N°26 : Hyperexpression du système MexAB-OprM (A.Mérens et al 2012).

d) Détection de la résistance aux fluoroquinolones :

La détection de la résistance aux fluoroquinolones par l'hyperexpression acquise des systèmes naturels d'efflux transmembranaire peut être réalisée par la détermination de Concentration Minimale Inhibitrice de ciprofloxacine avec et sans Cyanure de Carbone-3-Chloro-Phénylhydrazine CCCP (qui augmente la perméabilité membranaire) par E-test ou par CMI en milieu gélosé (N-Al. Rashed et al 2020).

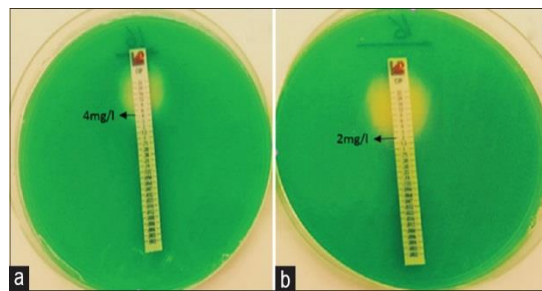


Figure N°27 : Comparaison des résultats de l'E-test sur la gélose Muller-Hinton ordinaire (a) et la gélose Muller-Hinton avec CCCP(b). (N-Al Rashed et al 2020).

III.6.3.4.2.Méthodes génotypiques :

- Détection des résistances vis-à-vis des bêta-lactamines :

La détection génotypique a été réalisée pour détecter les gènes des BLSE (blaTEM, blaSHV, blaCTX-M, blaPER, blaVEB), le gène AmpC à médiation plasmidique et les gènes codant pour les carbapénèmes (blaIMP, blaVIM, blaOXA, blaKPC, blaNDM) (V.Bajpai et al 2019).

Une PCR multiplex a été utilisée pour l'amplification des gènes MexA-B-R codant pour les pompes d'efflux, et amplification des gènes codant pour les porines de la membrane externe. Ainsi que Pour AmpC (H-A. Abbas et al 2018).

- Détection des résistances vis-à-vis des fluoroquinolones :

Amplification par PCR de séquences partielles de gyrA, parC et mexR (K-N.Nguyen et al 2018).

III.6.3.5. Traitement des infections à PAMR :**- Colistine :**

La colistine et la polymyxine B peuvent être des agents alternatifs efficaces pour le traitement de PAMR. Memer et al ont constaté que l'efficacité de la colistine est supérieure à celle d'un autre β -lactamine. L'association de la colistine avec un agent anti-pseudomonas tel que l'imipénème, la pipéracilline, l'aztréonam, la ceftazidime, azlocilline, la rifampicine ou la ciprofloxacine s'est révélée plus efficace que la colistine seule contre les infections à PAMR (**P.Pachori et al 2019**), en particulier avec les carbapénèmes, les altérations membranaires induites par la polymyxine pouvant réverser partiellement les résistances par imperméabilité (**M-E.Falagas et al 2010**)

- L'association céfépime/amikacine :

A été utilisée avec un taux de succès clinique de 66% lors d'une épidémie liée à un clone de PAMR dans un hôpital français (**F.Barbier et M.Wolff, 2010**).

- La fosfomycine :

Par voie parentérale pourrait constituer une autre option thérapeutique. Cette molécule est active in vitro sur environ 30% des isolats de PAMR (**F.Barbier et M.Wolff 2010**).

Perspectives

-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, céphalosporine (céftazidime ou céfépime)/fluoroquinolone et macrolides (clarithromycine ou azithromycine) (**JJ. Rahal 2006**).

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. (**F. Barbier et M.Wolff 2010**).

-Céfiderocol : in vitro, il est actif sur l'ensemble des BGN y compris les *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistants (**M-A. Hackel et al 2018**).

- L'utilisation de Phénylalanine-Arginine β -Naphthylamide (PABN) en association avec la gentamicine semble être une approche thérapeutique intéressante contre les infections pulmonaires causées par *P. aeruginosa*. Le PABN a augmenté l'activité de la gentamicine et de l'érythromycine contre *P. aeruginosa*. L'inhibition des pompes à efflux semble être le mécanisme par lequel PABN a potentialisé l'activité de ces antibiotiques (**D-L. Gbian et al 2019**).

CHAPITRE IV
LES BACTERIES HAUTEMENT
RESISTANTES EMERGENTES (BHR_e)

CHAPITRE IV : LES BACTERIES HAUTEMENT RESISTANTES EMERGENTES(BHRe) :

IV.1.DEFINITION :

Au-delà des BMR endémiques, de nouvelles bactéries qualifiées de bactéries hautement résistantes et émergentes (BHRe) sont au centre des actions de prévention croisées (**D. Lepelletier et al 2015**).

Elles concernent des bactéries commensales du tube digestif ayant acquis des résistances aux antibiotiques de seconde ligne et dotées d'un pouvoir de diffusion épidémique (**C.Gomart et al 2019**).

Au niveau international et notamment européen, la terminologie BHR peut correspondre à une traduction de « Extensively Drug Resistant » (XDR) tel que défini dans un consensus international (**A-P.Magiorakos et al 2012**).

Ces bactéries XDR sont sensibles à seulement une ou deux classes d'antibiotiques (EUCAST). Les XDR incluent les EPC mais aussi toutes les autres bactéries à Gram négatif produisant des carbapénémases, comme *A. baumannii* et *P. aeruginosa*. Cependant, cette définition est purement microbiologique et ne prend en compte ni les caractéristiques écologiques des espèces, ni le caractère émergent, ni le niveau de mesures de gestion requis pour maîtriser leur diffusion (**J.Debeaupuis et B.Vallet 2013**).

Ainsi, on considérera comme BHRe :

*Parmi les bacilles à Gram négatif : les Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC).

*Parmi les cocci à Gram positif : l'*Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides (ERG) (**C.Bouvier-Selkovec 2013**).

IV.2.LES ENTEROBACTERIES PRODUCTRICES DE CARBAPENEMASES (EPC) :

Les EPC sont des Entérobactéries productrices d'enzymes carbapénémases qui rendent inactifs les carbapénèmes et plusieurs autres classes d'antibiotiques. Cela cause des infections difficiles à traiter ainsi que la mort chez plus de 50 % des patients aux prises avec une infection grave (**Agence ontarienne de protection et de promotion de la santé 2013, https://www.publichealthontario.ca/fr/eRepository/RPAP_All_HealthCare_Settings_FR2_012.pdf**).

L'infection par ces micro-organismes est responsable de difficulté, voire d'impasses thérapeutiques. De plus ces germes représentent un danger potentiel en tant que sources, réservoirs, et véhicules de gènes de carbapénémases ainsi qu'un risque d'épidémie hospitalière pouvant devenir rapidement incontrôlables (**B. Maamar et al 2019**).

IV.2.1.Mécanismes de résistance des Entérobactéries aux carbapénèmes :

La résistance des Entérobactéries aux carbapénèmes peut résulter de deux mécanismes différents. L'un combine la production d'une céphalosporinase hyperproduite ou d'une β -lactamase à spectre étendu (BLSE) à celle de la perte d'une porine, l'autre consiste en la production d'une carbapénémase (**C. Doit 2015 ; M. Abbas et al 2012**).

IV.2.1.1. Association d'une hyperproduction de céphalosporinase ou de BLSE et d'imperméabilité :

Ce mécanisme associe une hyperproduction de céphalosporinase ou de BLSE à une altération quantitative ou qualitative des protéines transmembranaires (imperméabilité), les porines, permettant l'accès des carbapénèmes à l'espace périplasmique.

Ce mécanisme est assez fréquent chez les espèces bactériennes produisant naturellement des céphalosporinases chromosomiques, dont la production peut être dérégulée, comme les *Enterobacter sp*, *Serratia sp* ou *Citrobacter freundii*.

Ces souches peu transmissibles, donc peu inquiétantes du point de vue épidémiologique global, ne sont pas considérées comme des BHRe, bien qu'elles puissent être à l'origine de petites épidémies au sein d'unités de soins (C. Doit 2015).

IV.2.1.2. Production de carbapénémases :

Ce mécanisme est lié à la production d'enzymes, les carbapénémases, à forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes, mais compromettant également l'activité des autres β -lactamines. Ces souches sont considérées comme des BHRe (C. Doit 2015).

Les carbapénémases constituent un groupe hétérogène d'enzymes dont le point commun est d'hydrolyser au moins un des carbapénèmes. Ces enzymes sont retrouvées dans une grande variété d'espèces bactériennes (Entérobactéries, *P.aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*) (N. Grall et al 2011).

Ce mécanisme est plus important d'un point de vue clinique car il compromet le plus souvent l'efficacité de presque toutes les bêtalactamines. Il est stable et survient dans des souches qui sont très résistantes à d'autres familles d'antibiotiques (aminosides, fluoroquinolones) (A. Boutet-dubio et al 2012 ; Levy Hara et al 2013).

Le gène codant pour les carbapénémase est le gène bla, de localisation plasmidique ou sur les intégrons (Annexe V) (A. Boutet-dubio et al 2012 ; Levy Hara et al 2013).

Selon la classification d'Amble (Tableau N°VI), il existe 3 classes de carbapénémases: les carbapénémases de Classe A, les carbapénémases de Classe B (les métallob-lactamases), les carbapénémases de Classe D (les Oxacillinases).

Classification d'Ambler	Type Enzyme	Spectre d'activité	Germe(s)
A type serine	KPC	Toutes les β -lactamines	Entérobactéries (rare <i>P. aeruginosa</i>)
A type serine	SME	Carbapénèmes et aztréonam mais pas C3G	<i>S. marcescens</i>
A type serine	NMC-A, IMI	Carbapénèmes et aztréonam mais pas C3G	<i>Enterobacter spp.</i>
A type serine	GES	Imipénème et C3G	<i>P. aeruginosa</i> Entérobactéries
B métaallo- β -lactamases	IMP, VIM, NDM	Toutes les β -lactamines sauf aztréonam	Entérobactéries <i>Pseudomonas spp</i> <i>Acinetobacter spp</i>
D type serine	OXA	Carbapénèmes (faible activité)	<i>Acinetobacter spp</i> (Entérobactéries)

KPC : *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*, SME : *Serratia marcescens enzyme*, NMC-A : *non-metallo carbapenemase A*, IMI : *Imipenem-hydrolyzing β -lactamase*, GES : *Guiana Extended Spectrum*, IMP : *Active on imipenem*, VIM : *Verona integron-encoded metallo- β -lactamase*, NDM : *New Delhi metallo- β -lactamase*, OXA : *Oxacillinase*

**Tableau N°VI : Les différentes classes d'Ambler des carbapénèmases
(J-B. Patel et al 2009 ; M-H. Nicolaos Chanoine et J. Robert 2012)**

IV.2.2.Epidémiologie :

❖ Portage :

Les Entérobactéries productrices de carbapénèmases ont surtout une colonisation digestive asymptomatique (porteur asymptomatique), mais elles peuvent également être responsable d'infection (bactériémies, pneumopathies, infections urinaires...) liées à des facteurs de risque (V. Cattoir 2014 ; S. Biovin et al 2016).

❖ Mode de transmission :

La colonisation par des EPC (le portage digestif) joue un rôle important dans la transmission, la durée de colonisation varie dans la littérature, le pourcentage des patients toujours porteurs diminue avec le temps (30-35% de porteurs après 3 à 6 mois). Le risque de transmission demeure tant que l'individu est porteur (CCLIN 2013 ; S. Biovin et al 2016 ; INSPQ 2016). La transmission des EPC peut être réalisée par un contact direct ou indirect avec le patient ou son environnement contaminé, ou par une contamination hydrique ou alimentaire (S. Biovin et al 2016).

Le risque de transmission est accru en présence d'une diarrhée, une incontinence fécale, présence de dispositifs invasifs, plaie avec écoulement et les suppurations (CCLIN Ouest 2011 ; INSPQ 2016).

Il ne faut pas sous-estimer le rôle de l'eau et de la nourriture comme vecteurs de transmission de ces bactéries car une étude réalisée à New Delhi, en Inde, a révélé que l'eau de la ville ainsi que les égouts étaient contaminés par une multitude de bactéries portant le gène de résistance des EPC (S. Boivin et al 2016).

❖ Données épidémiologiques :**- En France :**

Les premiers cas d'EPC sont apparus en France au cours des années 2000, caractérisés par un lien quasi constant avec une hospitalisation initialement à l'étranger. Selon le bilan épidémiologique national publié par Santé publique France en fin décembre 2015, on constate une augmentation du nombre d'épisodes concernant les EPC. L'espèce *Klebsiella pneumoniae* est la plus impliquée (58 % des épisodes), suivie d'*Escherichia coli* (36 %) et d'*Enterobacter cloacae* (12 %). Les mécanismes OXA-48 et OXA-48-like (78 %) sont les plus fréquemment retrouvés, suivis du mécanisme NDM (14 %) et de KPC (6 %), selon ce rapport (**J-Y. Moutien et al 2018**).

- Aux états unis :

L'étude qui avait été menée à l'hôpital Johns Hopkins à Baltimore portant sur la prévalence de la colonisation par les Entérobactéries multi-résistantes chez les enfants admis en unité de soins intensives, a montré une prévalence faible de portage des EPC chez ces enfants, qui égale à 0,4%. Les EPC isolées appartenaient au genre *Klebsiella pneumoniae*, (KPC) (**N. Suwantararat et al 2016**).

- En Asie :

Une étude avait été menée afin d'estimer la prévalence du portage des EPC, chez des patients admis en service de réanimation. L'étude avait été conduite sur 3 hôpitaux universitaires à Seoul en Corée du sud, sur une durée de deux mois (de juin à août 2012), 347 patients ont été admis au service de réanimation des hôpitaux participants, où chacun d'eux a eu un prélèvement rectal à l'admission. La prévalence du portage des EPC était très basse 0,3% de la taille de l'échantillon(<https://doi.org/10.3343/alm.2014.34.1.20>).

- En Afrique :***Egypte :**

Une étude menée à l'hôpital du Caire –Egypte- portant sur la colonisation de l'intestin par des EPC chez des enfants admis en unité de soins intensif (USI), sur une période de 06 mois (du septembre 2015 au février 2016). 100 prélèvements rectaux correspondant à 100 enfants admis en USI ont été récoltés, correspond à l'isolement de 413 souches d'Entérobactéries.

100/413 souches isolées étaient des Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, une prévalence de 24%, 80/100 des souches d'Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (80%) présentaient un mécanisme enzymatique de résistance par production de carbapénémase. Les EPC appartenaient aux espèces suivantes : *Escherichia coli* (n=17), *Klebsiella pneumoniae* (n=60), *Klebsiella oxytoca* (n=1), *Enterobacter cloacae* (n=2). Avec une prédominance du gène bla-OXA-48 (80% des EPC isolés) (**D-M.Ghaith et al 2019**).

***Algérie :**

Selon le rapport du réseau de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, durant l'année 2016, le taux d'isolement des EPC en réanimation était de 2% (13/560) (**AARN 2017**).

En 2017, le taux des entérobactéries confirmées résistantes à l'imipénème isolées chez les patients hospitalisés était de 1.56% (104/6643) avec prédominance de *klebsiella pneumoniae* 2.87%, suivi d'*Entérobacter cloacae* 2.66%. Et le taux d'isolement des EPC en réanimation était de, 1.24% (11/886) (**AARN 2018**).

IV.2.3.Méthodes de détection :

IV.2.3.1.Méthodes phénotypiques :

Sont des techniques non moléculaires qui ont été proposées pour la détection d'une activité carbapénémase. Parmi ces techniques, on trouve les tests d'inhibition (test de disque combiné, test de double disque de synergie, bandes de diffusion en gradient, test de Rosco) et les tests d'hydrolyse (test de Hodge modifié et les tests biochimiques) (A.Aguirre-Quinonero et L. Martinez-Martinez 2017).

Classiquement et quelle que soit la carbapénémase impliquée, l'ertapénème est souvent la molécule la plus hydrolysée, et donc l'indicateur possédant la meilleure sensibilité pour la détection des souches d'EPC (L.Dortet et al 2013).

En première intention, toute diminution de sensibilité aux carbapénèmes (imipénème, méropénème, ertapénème, doripénème) doit initier une recherche de carbapénémase (L. Dortet et al 2013).

La recherche des carbapénémases chez les Entérobactéries est indiquée dans les situations suivantes :

- Un diamètre d'inhibition pour méropénème et imipénème < 22 mm et le diamètre d'inhibition pour ertapénème < 21 mm.
- La présence de colonies discrètes dans la zone d'inhibition des carbapénèmes (surtout ertapénème).
- Une CMI (E-test) pour les carbapénèmes ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$ et CMI (E-test) pour ertapénème > 0.5 $\mu\text{g/ml}$.
- Une résistance aux C3G (ceftazidime, céfotaxime, ceftriaxone) (K.Rahal et al 2014).

- **Test d'inhibition :**

Les tests d'inhibition sont basés sur les capacités inhibitrices de l'acide clavulanique, du tazobactam et de l'acide boronique vis à vis des carbapénémases de type KPC, et sur l'activité inhibitrice de l'EDTA et de l'acide dipicolinique vis-à-vis des métallo-b-lactamases. Malheureusement, ces techniques de confirmation possèdent des sensibilités et des spécificités variables, et induisent un délai important dans le rendu du résultat au clinicien (au moins 24 h à partir du résultat de l'antibiogramme) (L. Dortet et al 2013).

-**Test de disque combiné (CDT) :** ce test repose sur la différence entre le diamètre de zone d'inhibition d'un disque de carbapénème (dans la plupart des cas méropénème ou imipénème) par rapport à celui produit par un disque contenant une combinaison d'un carbapénème et d'un inhibiteur (EDTA pour MBL, acide boronique pour KPC) (A. Aguirre-Quinonero et L. Martinez-Martinez 2017).

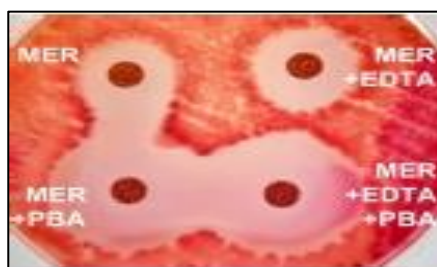


Figure N°28 : Apparition d'un CDT positif pour EPC productrice de KPC (S.Pournaras et al 2013).

-**Test de double disque de synergie (DDST_S)** : la production de carbapénémase de classe B peut être suspectée si une image de synergie est observée entre un disque d'EDTA et un disque d'imipénème (A. Aguirre-Quinonero et L. Martínez-Martínez 2017).

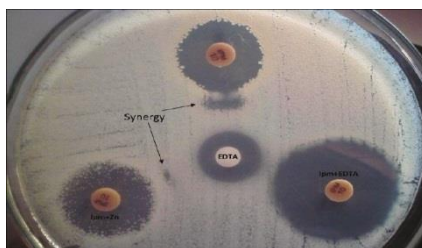


Figure N°29 :Test de double disque de synergie (S.Rai et al 2011).

-**Bandelettes de l'E-test** : ce test repose sur la diminution de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de carbapénème en présence d'inhibiteur spécifique de carbapénémase. Plusieurs formats de bandes de diffusion en gradient (les bandes E-test®) pour détecter les carbapénémases, en particulier les MBL, ont été conçus. (P. Nordmann et A. Carrer 2010 ; A. Aguirre-Quinonero et L. Martínez-Martínez 2017).



Figure N°30 :Bandelette d'E-test (T-R.Walsh et al 2002).

-**Test de Rosco** : (voir détection de carbapénémase *Acinetobacter baumannii*)

Les inconvénients : quelques faux positifs, difficultés d'interprétations pour certaines souches d'EPC possédant de bas niveaux de résistance au méropénème et pour certaines souches d'EPC produisant des carbapénémases de différents types (ex : NDM + OXA-48-like, KPC + VIM) (L. Dortet et al 2014).

- **Test d'hydrolyse :**

- **Test de Hodge modifié** : (voir détection de carbapénémase *Acinetobacter baumannii*)

Cette technique manque à la fois de spécificité (nombreux faux positifs avec les souches de *Enterobacter sp* surexprimant leur céphalosporinase chromosomique) et de sensibilité (faux négatifs, notamment avec les souches d'Entérobactéries productrices d'une carbapénémase de type NDM).

Il a d'ailleurs été récemment démontré que l'ajout de zinc dans le milieu de culture permettait d'augmenter la sensibilité de ce test (D. Girlich et al 2012).

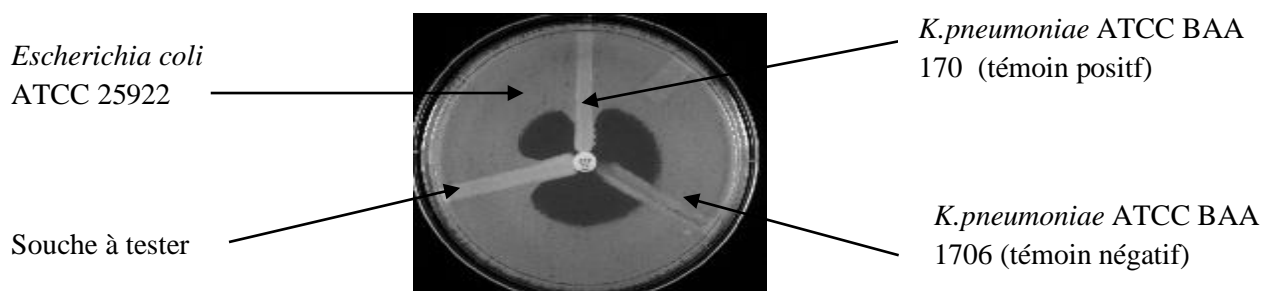


Figure N°31 : Test de Hodge modifié (L. Dortet et al 2014).

- **Spectrophotométrie** : (voir détection de carbapénèmase, *Acinetobacter baumannii*).
- **Carba NP test (Carba Nordmann-Poirel test)** : (voir détection de carbapénèmase *Acinetobacter baumannii*)

Le Carba NP test est un test rapide (en moins de 2 h), peu onéreux, et peut être mis en place dans n'importe quel laboratoire de microbiologie, répondant ainsi parfaitement aux exigences cliniques d'identification rapide des patients infectés par des EPC (L. Dortet et al 2013).

- **Les Milieux Chromogènes :**

Ces dernières années, des milieux sélectifs ont été développés pour le dépistage des EPC. Parmi ces milieux, on distingue essentiellement (Annexe V) :

- CHROMagar™ KPC
- ChromIDRCarba (bioMérieux)
- Brilliance CRE (Oxoid)
- mSuperCARBA™ (CHROMagar) ou SUPERCARBA medium « maison »
- ChromIDR OXA-48 (bioMérieux)
- ChromIDR CARBA smart (bioMérieux) (G. Vroni et al 2012 ; M. Papadimitriou-Olivgeris et al 2013).

IV.2.3.2. Méthodes génotypiques:

Les tests moléculaires sont considérés comme étant la référence pour l'identification des gènes codant pour les carbapénèmases. Ces techniques sont majoritairement basées sur la PCR (polymérase chaîne réaction) et peuvent être suivies d'une étape de séquençage nécessaire à l'identification précise du gène codant pour la carbapénèmase (L. Dortet et al 2013).

La technique de biologie moléculaire est un test obligatoire pour la confirmation, il a une excellente spécificité et sensibilité et il apporte une certitude rapide de la présence ou non du gène de carbapénèmase et permet de déterminer son type, mais il nécessite un matériel spécial donc un coût élevé (C. Cattoen 2012 ; M. Altamimi et al 2017).

IV.2.4. Traitement :

La plupart des souches EPC ont un phénotype de multi-résistance aux antibiotiques qui limite très fortement les possibilités thérapeutiques. Au cours des dix dernières années, l'augmentation de la multi-résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif, et

notamment la dissémination de la résistance aux carbapénèmes chez les Entérobactéries, a engendré l'utilisation d'antibiotiques d'autres que ces derniers (**L. Dortet et al 2016**).

IV.2.3.1. Molécules d'ATB préconisées dans le traitement des infections causées par les EPC :

- Carbapénèmes :

Envisager les carbapénèmes comme possibilité thérapeutique d'une bactérie productrice d'une carbapénémase peut paraître absurde d'un premier abord. Les concentrations critiques des carbapénèmes ont été définies de sorte que les isolats cliniques incluant la majorité des carbapénémases soient catégorisés « intermédiaires » ou « résistants » aux carbapénèmes. Certains isolats producteurs de carbapénémases peuvent aussi être catégorisés « sensibles » à cette classe thérapeutique. La présence d'une carbapénémase n'interfère donc pas sur la catégorisation de ces EPC, et la présence d'une carbapénémase n'exclut en aucun cas, de façon définitive, l'utilisation des carbapénèmes qui restent une option thérapeutique sous certaines conditions.

Une association de deux carbapénèmes est proposée par certains travaux. L'utilisation de l'ertapénème avec une forte dose de méropénème ou de doripénème est une stratégie possible dans les infections à KP-KPC comportant une CMI des carbapénèmes élevée ou dans les situations de résistance à la colistine. L'ertapénème ayant une meilleure affinité pour les carbapénémases agit comme un substrat suicide. Il bloque l'enzyme et permet ainsi l'action de l'autre carbapénème (**J-Y. Mootien et al 2018**).

- La colistine :

Est administrée sous forme d'une prodrogue inactive (colistiméthate). En raison de sa conversion lente en forme active, il est recommandé d'administrer une dose de charge afin d'atteindre les taux thérapeutiques dans les plus brefs délais. Ces taux sont atteints en 12 à 24 heures lors de l'utilisation d'une dose de charge, alors que plus de 48 heures seront nécessaires dans le cas contraire (**V. Cattoir 2014 ; D. Plachouras et al 2009**).

Le risque de toxicité rénale connue de la colistine est majoré en cas d'utilisation de fortes doses et d'association de médicaments néphrotoxiques. Dans le cadre de la prise en charge des patients de réanimation, l'optimisation de l'hydratation peut permettre de diminuer ce risque (**J-Y. Mootien et al 2018**).

La colistine peut également être administrée en aérosol à la dose de 2 MUI toutes les huit heures dans les pneumonies (**DF. Florescu et al 2012**).

Pour les souches résistantes à la colistine, certains auteurs proposent une association colistine–rifampicine permettant d'avoir une activité synergique au niveau des infections à *K. pneumoniae* KPC (**J-Y. Mootien et al 2018**).

- La tigécycline :

Premier membre de la famille des glycylicyclines, a une affinité environ cinq fois plus puissante que les tétracyclines au niveau de la sous-unité ribosomale 30S. Antibiotique bactériostatique à large spectre avec un grand volume de distribution, elle conserve une activité sur un grand nombre de BGN multirésistants (**J-Y. Mootien et al 2018**).

La tigécycline a été associée à un sur-risque d'échecs cliniques et n'est pas recommandée en monothérapie dans les infections sévères, elle doit être utilisée en association (méropénème ou fosfomycine) dans le traitement des infections à EPC (**I. Oren et al 2013**).

- Fosfomycine :

Agissant au niveau de la synthèse du peptidoglycane, sa faible masse moléculaire lui confère une bonne diffusion tissulaire. Elle possède une activité bactéricide avec un large spectre vis-à-vis des bactéries à Gram positif et négatif. Concernant les souches de *K. pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes on retrouve une sensibilité allant de 39,2 à 100 % dans une revue de la littérature publiée en 2016 avec néanmoins des CMI 50 et une CMI 90 plus élevées que pour les autres bactéries sensibles à cette molécule (**J-Y. Mootien et J-R.Zahar 2018**).

L'utilisation de la fosfomycine en monothérapie est déconseillée en raison du risque d'émergence de résistance et d'échec thérapeutique (**M. Bassetti et al 2016**).

- Les aminosides :

Les aminosides constituent une option thérapeutique dans les associations d'antibiotiques proposées lors de la prise en charge des infections à EPC. En raison de la toxicité rénale, une association avec la colistine est fortement déconseillée et elle sera exceptionnellement privilégiée dans le de résistance aux carbapénèmes. Par ailleurs, on rapporte une diminution de l'incidence de la néphrotoxicité en cas d'association avec la fosfomycine probablement secondaire à l'effet protecteur de cette dernière (**J-Y. Mootien et J-R.Zahar 2018**).

- Avibactam :

Nouvel inhibiteur des β -lactamases, l'avibactam, a une activité vis-à-vis des β -lactamases à spectre élargi (BLSE), des Amp C ainsi que des carbapénémases de types KPC et Oxa-48. Par contre, il reste inactif vis-à-vis des souches produisant des métallo- β -lactamases. Associé à la ceftazidime, rapportent une efficacité supérieure par rapport à d'autres associations thérapeutiques dans la prise en charge des bactériémies à *K. pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes (**J.Y. Mootien et J-Y.Zahar 2018**).

IV.2.4.2.Perspectives thérapeutiques :

Quelques molécules et inhibiteurs des β -lactamases tels que l'éravacycline, la plazomycine, le relebactam et le vaborbactam sont en cours d'essai et pourront représenter les perspectives thérapeutiques (**J-Y. Mootien et J-R.Zahar 2018**).

-Imipénème-relebactam : Le relebactam est un inhibiteur des β -lactamases de classes A et C qui permet de restaurer l'efficacité in-vitro de l'imipénème contre les Entérobactéries productrices de carbapénémases. L'association n'est pas disponible à ce jour à la commercialisation dans l'attente des résultats des études cliniques de phase III (**M.Boisson et O.Mimoz 2018**).

-Méropénème-varbobactam :

Le varbobactam est un inhibiteur des bêta-lactamases de classes A, C et certaines D (**H.Wright et al 2017**). L'association n'est pas encore commercialisée dans l'attente des résultats des études cliniques de phase III (**M.Boisson et O.Mimoz 2018**).

IV.3. ENTEROCOQUES RESISTANTS AUX GLYCOPEPTIDES :

IV.3.1.Rappel:

La famille des Entérocoques comprend une vingtaine d'espèces, les deux espèces les plus fréquemment isolées chez l'homme sont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* (**F-H. Kayser et al 2008**).

Les Entérocoques sont des cocci à Gram positif (**Figure N°30**), catalase négatif, anaérobies facultatifs qui se présentent en paires ou sous forme de chainettes courtes.

Leur culture est favorisée par le CO₂ ou anaérobiose, ce sont des bactéries non exigeantes, elles poussent sur gélose nutritive et gélose au sang. Les Entérocoques poussent aussi en présence de 6.5% de NaCl et à PH 9,6. Le métabolisme est fermentatif. Il hydrolyse l'esculine en présence de 40% de bile. Des milieux sélectifs à base d'antibiotique (l'acide nalidixique et la colistine) permettent d'isoler les Entérocoques d'un échantillon polymicrobien (**L. Le Minor et M. Veron 1989 ; J.Fauchère et J-L. Avril 2002**).



Figure N°32 :Aspect des Entérocoques au microscope électronique.

(<https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/antibioresistances-infections-nosocomiales-enterocoques-resistent-antibiotiques-78789/>)

Les Entérocoques sont des bactéries commensales inoffensives présentes dans la flore gastro-intestinale chez l'homme et chez l'animal. Toutefois, ils peuvent également être responsables de complications graves, telles que des infections des voies urinaires ou des bactériémies, avant tout chez les patients gravement malades ou immunodéprimés (**M. Gassera et al 2018**).

IV.3.2.Mécanisme de résistance des Entérocoques aux glycopeptides :

La résistance aux glycopeptides se manifeste en grande partie chez les Entérocoques par l'expression de gènes codant pour des protéines (nommés Van) qui reprogramment la biosynthèse des parois cellulaires et par conséquent se soustraient à l'action de ces antibiotiques (**E. Binda et al 2014**).

Neuf types de résistance aux glycopeptides ont été décrits, sur des critères phénotypiques et génotypiques, correspondant à une résistance naturelle ou acquise (**V. Cattoir et R. Leclercq 2012**).

- **Résistance naturelle :**

Observée chez *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus* et *Enterococcus flavescens*. Le support de cette résistance est le gène VanC qui est chromosomique et non transférable et qui confère une résistance de bas niveau à la vancomycine tandis que téicoplaninereste active (**P. Courvalin 2006 ; J-C. Quincampiox et J-L. Mainardi 2001**).

- **Résistance acquise :**

Observée surtout chez *E. faecium*, moins souvent chez *E. faecalis* et plus rarement chez d'autres espèces d'Entérocoques. Huit types de gènes (vanA, vanB, vanD, vanE, vanG, vanL, vanM et vanN) correspondent respectivement aux phénotypes VanA, VanB, VanD, VanE, VanG, VanL, VanM et VanN (**Annexe V**). Le type VanA est le plus fréquemment retrouvé chez les Entérocoques et qui présente un haut niveau de résistance aux glycopeptides, les autres types ont des niveaux de résistance variables (**P. Courvalin 2005 ; P. Courvalin 2006**).

La résistance des Entérocoques aux glycopeptides est due à la production de précurseurs de la paroi modifiés par substitution d'une chaîne métabolique alternative à une chaîne enzymatique habituelle, permettant la synthèse de précurseurs modifiés ayant une faible affinité pour les glycopeptides. Ces précurseurs modifiés se terminent par un dipeptide D-alanyl-D-lactate (D-ala-D-lac) ou D-alanyl-D-sérine (D-ala-D-ser) au lieu de D-alanyl-D-alanine (précurseurs naturels de haut affinité) (V. Cattoir et R. leclercq 2010 ; N. Bourdon 2011).

Ce sont les souches qui ont une résistance acquise que l'on appelle couramment Entérocoque résistant aux glycopeptides (ERG), et cela quelque soit le gène en cause (J. Robert 2007).

Les caractéristiques des principaux types de résistance aux glycopeptides chez les Entérocoques sont résumées dans le tableau suivant :

Résistance Caractère	Acquise			Naturelle
	VanA	VanB	VanD	VanC1 VanC2 VanC3
Phénotype	VanA	VanB	VanD	VanC1 VanC2 VanC3
CMI (mg/l) vancomycine	64-1000	4-1000 (Souvent 16-64)	64-128	2-32
CMI (mg/l) teicoplanine	16-512	0.5-1	4-64	0.5-1
Expression des gènes	Inductible	Inductible	Inductible	Constitutive Inductible
Support génétique et localisation	Transposon, plasmide, chromosome	Transposon, plasmide, chromosome	Chromosome	Chromosome
Cible modifiée	D-ala-D-lac	D-ala-D-lac	D-ala-D-lac	D-ala-D-ser
Transférabilité par conjugaison	+	+	-	-
Espèce bactérienne	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. mundtii</i> <i>E. avium</i> <i>E. durans</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. flavescens</i>

Tableau N°VII: Les caractéristiques des principaux types de résistance aux glycopeptides chez les Entérocoques (M. Leone et al 2000, M. Fines et al 2007).

IV.3.3.Epidémiologie :

❖ Portage :

Les Entérocoques résistants ou non aux glycopeptides, colonisent le tube digestif de l'homme, des mammifères, des oiseaux et des reptiles. Ils peuvent également coloniser la bouche, les voies respiratoires, le vagin et la région périnéale.

Les Entérocoques résistants aux glycopeptides ont surtout une colonisation digestive asymptomatique (porteur asymptomatique), mais ils peuvent également être à l'origine d'infections urinaires et intra-abdominales, de bactériémies et d'endocardites (N. Bourdon et al 2011 ; C. Jehl et al 2011).

❖ Mode de transmission :

Les ERG, qui ont la capacité de coloniser le tube digestif, peuvent se transmettre par les mains, le matériel et l'environnement (**In Vs 2008**).

Différents facteurs de risque d'acquisition d'un ERG ont été identifiés dans la littérature : la durée de séjour, le grand âge, les hospitalisations multiples, l'insuffisance rénale, la présence d'un cathéter central, l'administration d'un traitement anticancéreux ou d'un traitement antibiotique par vancomycine, céphalosporine de troisième génération ou imipénème (**In Vs 2008**).

❖ Données épidémiologiques :**-Dans le monde :**

Les premières souches d'*E. faecium* résistantes aux glycopeptides (ERG) ont été rapportées en France et en Angleterre en 1986, puis dans le monde entier, et notamment aux États-Unis où elles sont aujourd'hui endémiques dans les hôpitaux, avec des taux de prévalence chez *E. faecium* de plus de 80 % (**C.Doit et al 2015**).

En 2012, une augmentation inquiétante d'infections nosocomiales à ERV en Allemagne, avec un taux atteignant plus de 10% a été signalé (**L.Senn et al 2013**).

Les résistances à la vancomycine restent toujours relativement rares en Suisse, en 2017 elle était de l'ordre de 2,2%, pour *E. faecium* et de 0,3% pour *E. faecalis*, mais au cours de 2018, elles ont considérablement augmenté notamment en raison de la propagation rapide du clone de l'*E. faecium* ST796 (**M.Gassera et al 2018**).

- En France :

Les *E. faecium* résistant aux glycopeptides, ont été responsables d'épidémies dans les établissements de santé français depuis 2004. Ces épidémies ont fait l'objet dès 2005 de mesures strictes de contrôle. La France a ainsi maintenu une proportion de souches résistantes à la vancomycine chez *E. faecium* à un faible niveau (< 1 % en 2016) contrairement à d'autres pays d'Europe (> 40 % à Chypre et en Irlande) (**S.Maugat et al 2019**). En outre, la part d'épisodes avec des cas secondaires (15 % en 2015 et 21 % en 2016) et la proportion de cas secondaires parmi le nombre total de cas d'ERG signalés (44 % ces deux années) sont élevées (**V.Pontiès et al 2017**).

En réanimation, aucune souche n'a été identifiée en 2013 par le réseau de surveillance REA-Raisin (Réseau de Surveillance des Infections Nosocomiales en Réanimation Adulte) (**J-C. Lucet et L.Bouadma 2015**).

- En Tunisie,

Une étude rétrospective cas-témoins, s'étendant de janvier 2009 à décembre 2012, incluant tous les patients admis dans un service de réanimation médico chirurgicale à l'hôpital militaire principal de Tunis et présentant une bactériémie à *E. faecium* résistant à la vancomycine (EFRV), durant la période d'étude, 8 patients ont été recensés (Groupe EFRV) soit un taux d'incidence de 4,92 pour 1000 admissions (**M.Daiki et al 2013**).

- En Algérie :

Le premier cas d'Entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) a été signalé en novembre 2006, chez un patient âgé de 24 ans, régulièrement suivi par le service de pédiatrie de l'hôpital central de l'armée depuis sa naissance pour uropathie malformative, dans un échantillon d'urine (**N. Aggoune et al 2008**).

En Algérie l'isolement d'un ERG était rare. Une souche d'*Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides (EFRG) en 2007 a été isolée à partir d'une plaie opératoire chez un patient hospitalisé dans un CHU d'Alger. Cette souche était résistante à plusieurs autres antibiotiques (M. Hamidi et al 2013).

En 2014, un total de 21 ERV, dont 9 *E. faecium* ont été signalés (AARN 2016). Aucun cas d'*E. faecalis* résistant aux glycopeptide n'a été signalés en 2015 (AARN 2016), alors que 11 souches d'*E. faecium* ont été signalées en 2016 (AARN 2017).

En 2016, un total de 35/376 (9,3%) ERV, dont 0,12% *E. faecalis* résistants aux vancomycines et 1,68% d'*E. faecium* résistants aux vancomycine sont été signalé. Avec un pourcentage de 6,49% en réanimation (AARN 2017).

En 2017, 0,22% *E. faecalis* résistants aux vancomycines et 0.88 % *E. faecium* résistants aux vancomycines ont été signalés, avec un pourcentage de 7,38% ERV en réanimation (AARN 2018).

IV.3.4. Méthodes de détection :

L'isolement d'une souche d'Entérocoque résistant aux glycopeptides est une alerte, pour les risques d'épidémie qui nécessite une enquête de dépistage, et pour la prévention des infections nosocomiales. Il existe des techniques phénotypiques et génotypiques pour détecter les ERG (J. Delmas et al 2005 ; K. Rahal et al 2014).

IV.3.4.1. Méthodes phénotypiques :

La mise en évidence de la résistance des Entérocoques aux glycopeptides se fait en trois étapes :

a) Antibiogramme et tests complémentaire :

- Critères de présomption ou d'alerte :

Après réalisation d'un antibiogramme (Annexe I) avec un disque de vancomycine 30µg (VAN) et un disque de teicoplanine 30µg, et mesure des diamètres d'inhibition, selon les critères suivants :

	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Vancomycine	≤14	15-16	≥17
teicoplanine	≤10	11-13	≥14

Tableau N°VIII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et leurs interprétations chez les Entérocoques (VAN, TEC) (K. Rahal et al 2014).

Il y'a présomption d'un ERG si :

- Un diamètre d'inhibition <17mm pour VAN et <14mm pour TEC.
- Une différence de 3mm (au moins) entre les diamètres d'inhibition de VAN et de TEC.
- Présence de colonies dans les zones d'inhibition de VAN et /ou TEC (K. Rahal et al 2014).
- R ! L'échec thérapeutique est également un signe d'alerte.

S'il y a présence de l'un de ces critères, un screening test et une CMI sont réalisés.

- Tests de screening ou de criblage :

Ces tests nécessitent l'utilisation de milieux sélectifs spécifiques contenant de la vancomycine (J. Robert 2007).

Sur milieu solide à base de Bain Heart Infusion (BHI) agar additionné de 6µg/ml de vancomycine, ensemencement par spot, de 1à 10µl d'une suspension de 0.5McF. Le milieu est ensuite incubé à 35±2 °C pendant 24heures.

S'il y a une poussée de plus d'une colonie, le test est interprété comme positif, faire une CMI (Test de confirmation) (K. Rahal et al 2014).

- **Test de confirmation :**

Ce test est obligatoire devant tout test de présomption et/ou de criblage positif. Il est basé sur la détermination des CMI, soit par dilution en milieu gélosé, avec un inoculum de 0.5 McF dilué au 1/10^{ème} puis ensemencer 1à2 µl par spot, sur MH agar et incubé pendant 24heures.

Ou par E-test à partir d'un inoculum de turbidité de 0.5McF ensemencé sur gélose MH et incubé pendant 24 heures à 37°C (K. Rahal et al 2014).

L'interprétation des CMI se fait comme suit :

	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Vancomycine	≤4	8-16	≥32
Teicoplanin	≤8	16	≥32

Tableau N°IX : Valeurs critiques des concentrations minimales inhibitrices et leurs interprétations chez les Entérocoques (K. Rahal et al 2014).

b) Les milieux chromogènes :

La flore fécale est composée de très nombreuses espèces bactériennes, face à l'émergence des ERG, les industriels ont mis aux point différents milieux sélectifs permettant l'isolement facile des Entérocoques parmi cette flore (M. Fines et al 2007).

Parmi les principaux milieux disponibles sur le marché on peut citer les suivants :

Gélose	Fournisseur	Concentration de vancomycine	Identification directe d'espèce
BBL Enterococcosel agar®	BD Diagnostics	8 mg/l	Non
VRE®	AES Chemunex	6 mg/l	Non
CHROMagar VRE®	CHROMagar Microbiology	6 mg/l	Non
ChromID VRE®	BioMérieux	8 mg/l	Oui

Tableau N°X : Milieux chromogènes commerciaux utilisés pour le dépistage des ERG (A. Duroch 2009).

En effet, la gélose sélective le plus souvent utilisée est la « chromID VRE » (BioMerieux), elle donne une lecture rapide après 24h d'incubation et permet la différenciation dans l'identification de l'*E.faecium* et l'*E.faecalis*. Elle contient deux substrats chromogènes α-glucosidase et β-galactosidase, et 8 mg/l de vancomycine, ce mélange sélectif permet la croissance spécifique et sélective des Entérocoques résistants à la vancomycine (M. Fines et al 2007 ; B.Mantion 2015).

Par conséquent, la gélose est donc spécifique et sélective des ERV, et donne des colorations spécifiques des colonies (B. Mantion 2015) :

Dans le cadre du dépistage des ERG, au cours d'un phénomène épidémique, le milieu de détection utilisé doit être sensible (détection de tous les porteurs), spécifique (en particulier ne générant pas de faux positifs, cela pouvant résulter en une fausse alerte, et surtout en la mise en isolement d'un patient non porteur dans un secteur dédié ERG+), et devait permettre le rendu des résultats en un temps minimum (24-72 h). Fiabilité, facilité de lecture, rapidité mais aussi absence d'interférence avec la technique de PCR multiplex mise en place (**M. Grare 2008**).

IV.3.4.2.Méthodes génotypiques :

Les techniques phénotypiques sont simples et faciles à réaliser, elles permettent de suivre épidémiologiquement la sensibilité des souches (**S. Dekayser et al 2011**), par contre, l'identification des souches d'ERG sur ces milieux n'est pas aisée et peut prendre plusieurs jours (3 à 4 jours) avant identification complète. De plus, il n'est pas simple de distinguer les souches d'Entérocoque ayant une résistance acquise (vanA, vanB) de celles ayant une résistance naturelle (vanC) à la vancomycine (**S. Dekayser et al 2011 ; J. Robert 2007**).

La biologie moléculaire permet l'identification d'espèce et la détermination du génotype de résistance aux glycopeptides, la technique de référence est la PCR (Polymerase Chain Reaction), basée sur l'amplification du gène codant pour l'ARN 16S couplée au séquençage pour la recherche des gènes spécifiques des espèces *E. faecalis*, *E. faecium* et *E. gallinarum* (**C. Surcouf et al 2011 ; S. Godreuil et al 2007**).

Par ailleurs, différents systèmes de PCR en temps réel sont commercialisés comme en particulier le LC VRE Detection Kit®/LightCycler (Roche), le système Xpert VanA/VanB (Cepheid) ou le système BD GeneOhm VanR assay/SmartCycler (BD GeneOhm), il est à noter que le choix de la méthode par le laboratoire est fonction du contexte épidémique (**B. Manton 2015**).

La PCR donne des résultats rapides (moins d'une heure) et permet l'identification de l'ERG directement à partir des échantillons biologiques, par contre, elle est coûteuse et n'est pas réalisable par tous les laboratoires et c'est pourquoi il est demandé d'adresser toutes les souches au laboratoire de référence (**S. Dekeyser et al 2011 ; M. Thibault 2011**).

Acote de PCR, Hybridation Sur Puces (SFC) est une technique qui détecte les principaux déterminants de la résistance génétique impliqués dans la résistance à la vancomycine (vanA/B) chez les *Enterococcus spp* (**A. Galiana et al 2017**).

IV.3.5.Traitement :

Les glycopeptides ont longtemps été considérés comme les antibiotiques de référence pour le traitement des infections à bactéries à Gram positif résistantes, notamment à SARM. Néanmoins, l'augmentation progressive de leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) vis-à-vis de la vancomycine a fait reconsidérer ce paradigme, allant même jusqu'à faire baisser les valeurs seuils différenciant les souches « sensibles » des souches « intermédiaires » (i.e. de 4 à 2 mg/l) (**P-E.Charles et al 2017**).

Les alternatives des glycopeptides pour le traitement des ERG :

- **L'association de streptogramine du groupe A (quinupristine) et de streptogramine du groupe B (dalfopristine)** n'est active que sur les souches d'*E. faecium* avec un effet uniquement bactériostatique. Elle s'administre par voie IV à la posologie de 7,5 mg/kg toutes

les huit heures (posologie adulte qui a été utilisée dans quelques séries pédiatriques). Sa veine toxicité nécessite l'utilisation d'un cathéter veineux central. La résistance d'*E. faecium* à cette association demeure exceptionnelle. Son inhibition du cytochrome P450 3A4 peut perturber la pharmacocinétique d'autres molécules métabolisées par cette voie (**C. Doit 2015**).

- **La daptomycine** est un antibiotique rapidement bactéricide concentration-dépendant, utilisé principalement dans les bactériémies à *S. aureus*. Récemment, des souches d'ERG résistantes à cet antibiotique ont été décrites (**PD.Tamma et AJ.Hsu 2014 ; M.Kampoj et al 2011**).

- **Le linézolide** fait partie d'une nouvelle classe d'antibiotiques, les oxazolidinones, administrables par voie IV et par voie orale (PO) avec une bonne biodisponibilité. C'est un antibiotique bactériostatique, mais bactéricide sur les Entérocoques, dont la pharmacocinétique bien connue chez l'enfant en fait pour le moment l'antibiotique de première ligne dans les bactériémies à ERG chez l'enfant, bien qu'il n'ait pas d'AMM pédiatrique en France. Les posologies suggérées sont de 10 mg/kg toutes les huit heures jusqu'à 12 ans (IV ou PO) et de 600 mg toutes les 12 heures au-delà de 12 ans. En raison de sa toxicité hématologique potentielle, son utilisation au-delà de 28 jours est proscrite (**C.Doit 2015**).

- **Le tédizolide** Il s'agit du deuxième antibiotique membre de la famille des Oxazolidinones mis sur le marché après l'introduction du linézolide au début des années 2000. Le tédizolide est bactériostatique in vitro par inhibition de la synthèse protéique suite à sa liaison au domaine V de l'ARN ribosomal 23S de la sous-unité 50S du ribosome (**P-E. Charles et al 2017**).

De manière intéressante, les CMI critiques du tédizolide vis-à-vis de ces différentes espèces bactériennes sont inférieures à celles retenues pour le linézolide, suggérant une activité antibactérienne plus favorable (**M-A. Pfaller et al 2016**).

Le tédizolide est un antibiotique récemment commercialisé aux USA et en Europe pour le traitement des infections des tissus mous de l'adulte. Il est actif sur les SARM y compris ceux résistants au linézolide et les Entérocoques résistants à la vancomycine. Avec une biodisponibilité supérieure à 90 %, il présente l'avantage de pouvoir être administré par voie orale. Bien que les données cliniques soient encore limitées, il semble présenter une bonne tolérance, notamment en comparaison avec le linézolide (**F.Van Bambeke 2015**).

- **La tigécycline** est une glycylicycline qui a l'intérêt par rapport aux tétracyclines classiques d'être active contre les souches résistantes à ces dernières. Les souches cliniques résistantes sont exceptionnelles. C'est un antibiotique bactériostatique à très large spectre comprenant toutes les bactéries à Gram positif y compris les ERG et de nombreuses bactéries à Gram négatif (**C.Doit 2015 ; V.Cattoir et C.Daurel 2010**).

- **L'oritavancine** est un nouveau glycopeptide, semi-synthétique de la vancomycine ayant une activité bactéricide sur les bactéries à Gram positif, son administration est IV (**HAS 2015**).

Il a montré en association avec la gentamicine une supériorité comparée à une monothérapie par oritavancine seule en termes d'activité antimicrobienne dans un modèle d'endocardite expérimentale et de prévention de mutants résistants à l'oritavancine (**M-P. Fernandez-Gerlinger et J-L. Mainardi 2014**).

CHAPITRE V
PREVENTION DE LA DIFFUSION
DES BMR ET DES BHR_e

CHAPITRE V : PREVENTION DE LA DIFFUSION DES BMR ET DES BHR

V.1.LES MESURES PREVENTIVES :

L'émergence de la résistance aux antibiotiques est un enjeu de santé publique. La maîtrise de la diffusion des bactéries multi- ou hautement résistantes (BMR ou BHR) aux antibiotiques repose sur une double stratégie de réduction de la prescription des antibiotiques et de prévention de la diffusion à partir des patients porteurs (**HCSP 2013**).

Les mesures préventives des BHR sont celles des bactéries multirésistantes (BMR) avec des mesures spécifiques pour les BHR, associant des mesures d'hygiène et d'organisation des soins. Les précautions à appliquer pour minimiser le risque de diffusion des BHR doivent être adaptées à la situation épidémiologique (**HCSP 2013 ; J-C.Lucet et G.Birgand 2016**).

V.1.1.Le dépistage:

Le dépistage peut présenter des bénéfices individuels (prévention de l'infection par le germe recherché) et un intérêt collectif (prévention de la transmission du germe recherché) (**G.Birganda et J-C.Lucet 2013**).

Le dépistage des bactéries multirésistantes (BMR) en réanimation fait l'objet de controverses persistantes, ravivées par l'arrivée de nouvelles menaces. Les recommandations disponibles sont discordantes. L'attitude vis-à-vis des BMR endémiques, en pratique le Staphylocoque doré résistant à la méticilline (SARM) et les Entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi (EBLSE), est de privilégier les précautions standard, de manière adaptée à l'épidémiologie de chacune des BMR concernées : hygiène des mains et décolonisation éventuelles des porteurs pour SARM, et attention particulière à la gestion des excréta pour EBLSE. Le dépistage (associé à l'isolement) des porteurs de ces BMR n'apporte pas de bénéfice par rapport à une bonne application des précautions standard. Le dépistage est en revanche justifié pour la maîtrise de la transmission croisée des BMR hautement résistantes émergentes (BHR) (**C.Brun-Buisson 2015**).

En avril 2009, la Société Française d'Hygiène Hospitalière (SFHH) a émis, dans le cadre de la prévention de la transmission croisée, des recommandations nationales, dont voici les principaux messages :

- Il est fortement recommandé que le CCLIN (Centre de Coordination des actions de lutte contre les Infections Nosocomiales) définisse la politique de dépistage des micro-organismes et actualise régulièrement cette politique ;
- Il est fortement recommandé d'avoir une stratégie de dépistage adaptée à chaque secteur de soins, la situation épidémiologique d'un service pouvant justifier une stratégie spécifique ;
- Il est fortement recommandé, en situation épidémique, que le micro-organisme en cause puisse faire l'objet d'une stratégie de dépistage, quel que soit son phénotype de résistance ;
- Il est fortement recommandé de privilégier le dépistage des agents infectieux à « haut potentiel de transmission croisée », dont les BMR pour lesquels la transmission croisée joue un rôle essentiel, le meilleur exemple étant le SARM. A contrario, il est fortement recommandé de ne pas privilégier le dépistage des BMR sous la dépendance principale de la pression de sélection, notamment les Entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinases,

- Il est fortement recommandé de mettre en place une surveillance épidémiologique des agents infectieux « à haut potentiel de transmission croisée » dont les BMR (SFHH 2009).

Quelques recommandations supplémentaires sont à noter pour certaines BMR. En effet, concernant les EBLSE, leur dépistage est recommandé uniquement en cas de contact d'un patient ou en cas d'endémie (Y.Eddayab 2012).

D'autre part, pour les ERV, un avis du Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP) recommande, depuis 2010, la recherche de ces bactéries digestives commensales chez les personnes rapatriées de l'étranger ou ayant fréquenté le système de santé de pays ayant des fréquences élevées de ces bactéries. Une nouvelle version de ce rapport a étendu les recommandations aux patients ayant des antécédents d'hospitalisation à l'étranger dans les 12 mois précédents. Ces recommandations ont été récemment confirmées par une circulaire de la Direction Générale de la Santé (DGS) pour les Entérobactéries productrices de carbapénémases (Circulaire DGS/RI/DGOS/PF N° 2010-413 du 6 décembre 2010).

Pour le dépistage des ERV, il est principalement réalisé dans un contexte épidémique. Il peut néanmoins être mis en œuvre chez des patients très immunodéprimés tels que les sujets neutropéniques ou aplasiques. Enfin, la recherche de portage nasal de *S. aureus* est recommandée chez les sujets hémodialysés en raison d'un risque accru d'infections invasives à partir de cathéters colonisés (F.Denis et al 2011).

Pour les BHRé, les modalités de dépistage sont variables en fonction des patients (cas ou contact) et de la situation épidémique;

Patients «cas» : sont considérés comme patients cas tous les patients ayant au moins un prélèvement de diagnostic ou de dépistage positif à une BHRé (J.Robert 2007).

Patients «contact» : sont considérés comme patients contact tous les patients exposés à un cas, c'est-à-dire tous les patients pris en charge en hospitalisation par la même équipe soignante qu'un cas (HCSP 2013).

Le dépistage se fait comme suit :

- Chez un patient déjà connu porteur d'une BHRé : le dépistage est hebdomadaire, puis espacé
- Découverte fortuite d'un patient porteur de BHRé en cours d'hospitalisation : dépistages hebdomadaires des contacts, répétés au moins trois fois.
- Lors d'un contrôle d'une épidémie de BHRé: dépistages hebdomadaires des cas et des contacts
- Admission d'un patient contact d'un patient porteur en dehors d'une situation épidémique : 3 dépistages, à une semaine d'intervalle chez les contacts.
- Admission d'un patient contact d'un patient porteur lors d'une situation épidémique: dépistages hebdomadaires des contacts présents tant que le porteur est présent (HCSP 2013).

V.1.2.Maitrise de la diffusion des BMR et BHRé:

Les organisations mondiales et internationales se sont mises d'accord sur les recommandations de maîtrise de la diffusion des bactéries multi-résistantes. Ces recommandations reposent sur des précautions à mettre en place selon les situations qu'on divise en 3 parties :

Précautions standards qui concernent tous les patients ; **précautions complémentaires**, de type contact, gouttelettes et air qui concernent les patients porteurs et/ou infectés par des bactéries multi-résistantes BMR et à la fin on retrouve le dernier type de précautions qui en

plus des précautions complémentaires on ajoute **des mesures spécifiques (maximales) et une identification rigoureuse**, ce dernier type de précautions concerne les bactéries hautement résistantes émergentes BHRé

(https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/Telecharger?NomFichier=hcsp20130710_recoprevtra_nsbhre).

V.1.2.1. Les précautions standard (PS) :

Les PS d'hygiène doivent être appliquées systématiquement pour tous patients, quelque soit son statut infectieux et le lieu de sa prise en charge afin de limiter la transmission croisée des BMR et d'assurer une protection systématique des autres patients, du personnel et de l'environnement du soin; ceci est possible par un renforcement des mesures d'hygiène qui comprend :

- L'hygiène des mains : les germes multirésistants colonisent les mains du personnel soignant qui sont à l'origine des infections nosocomiales, donc le lavage des mains doit être systématique au moins à chaque entrée et sortie de la chambre du patient; l'utilisation des solutions hydro-alcooliques avant et après contact avec le patient et son environnement est nécessaire (**De-Geyter.D et al 2017**).

- Le port des gants : non stériles à usage unique (sachant que les gants constituent une barrière physique.) lors d'un soin, si risque de contact avec du sang ou tout autre liquide biologique, les muqueuses ou le matériel souillé, y compris le contact avec la peau saine du patient. Les gants doivent être changés entre deux patients, deux activités suivie d'une friction avec la solution hydroalcoolique avant de toucher à l'environnement du patient (**C. Jehl et al 2011 ; CCLIN Ouest 2011**).

- Le port de tenues protectrices : le port d'une blouse, de sur-chaussures et des masques lors des interventions au chevet des malades infectés est obligatoires (**Revue SF2H 2017**) , si les soins ou les manipulations exposent à un risque de projection de liquides biologiques (**C. Jehl et al 2011**).

- L'hygiène de l'environnement : la maîtrise de l'environnement avec un bio-nettoyage efficace, une désinfection et stérilisation du matériel autour des patients sont des éléments clés, pour limiter les risques de contamination des mains des soignants lors de contact avec l'environnement et la transmission croisée des BMR (**CCLIN Sud-Est 2014**).

- La hiérarchisation des soins : les soins médicaux et paramédicaux doivent toujours commencer par les patients indemnes et se terminent par les patients porteurs de BMR. Chez ceux-ci, les soins non contaminants doivent précéder les soins contaminants ; ces derniers s'effectuent obligatoirement avec une paire de gants et sont immédiatement suivis d'un lavage antiseptique des mains, après le retrait de la paire de gants (**Guide Romand 2017/ https://www.hpci.ch/sites/chuv/files/HPCI_Guide_PS_2017_1**).

- La gestion rigoureuse des excréta et déchets surtout le péril fécale qui présente le réservoir principale des Entérobactéries (**INRS 2017/ <http://www.inrs.fr/actualites/parution-hygiene-securite-travail-244.html>**).

V.1.2.2. Les précautions complémentaires :

Les précautions complémentaires viennent toujours en aval des précautions standards, et sont divisées en 3 types en fonction du mode de transmission des bactéries, anciennement appelé

isolement technique (<http://www.cclin-arlin.fr/nosopdf/doc09/0024109>).

Pour les BMR et les BHRé on applique les Précautions Complémentaires Contact (PCC) qui permettent la prévention de la transmission d'agents infectieux après contact physique entre un sujet colonisé ou infecté et un sujet réceptif (contact direct) ou par l'intermédiaire d'un vecteur présent dans l'environnement (contact indirect). Les PCC sont indiqués pour le patient, le personnel de santé et tout visiteur entrant.

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

- L'identification des porteurs de BMR (détection, signalisation,...) ;
- L'isolement géographique : il repose sur l'hospitalisation en chambre individuelle des patients fortement disséminateurs de BMR, tout le matériel nécessaire aux soins du malade doit être présent dans la chambre et réservé à ce seul malade. Les entrées et les sorties dans cette chambre doivent être réduites au maximum (**PC 2018-SEHH-CHU Dijon/ <http://www.ifsidijon.info/v2/wpcontent/uploads/2018/01/Pr%C3%A9cautions-compl%C3%A9mentaires-.pdf>**);
- La signalisation pour tous les intervenants au sein du service, elle doit être aisément reconnue par l'ensemble du personnel du service, elle se fait au moyen d'un logo connu au sein du service, non explicite pour le patient ou sa famille. Cette signalisation est recommandée sur la porte de la chambre du patient et sur le dossier médical et le portage de BMR doit être mentionné clairement dans les comptes rendus d'hospitalisation et lors des transferts des patients vers d'autres services ;
- Gestion des visites et des circulations ;
- La chimiodécontamination : la chimiodécontamination digestive a pu contribuer au contrôle de situation épidémique par l'association de deux des trois topiques suivants aminoglycosides, polymyxine B, érythromycine base. Il est proposé, en présence d'un ou quelques cas de colonisation digestive, est ciblée sur les seuls patients colonisés par EBLSE (**CLIN 2017**).

V.1.2.3.Les mesures spécifiques (search and isolate) :

Les principes de ces mesures spécifiques reposent sur l'identification des patients à risque et leur dépistage à la recherche du portage digestif de BHRé, l'application des PCC avec un très haut niveau de respect et une organisation spécifique des soins (allant jusqu'à la mise en place d'équipes dédiées). Selon les modalités de prise en charge du patient porteur de BHRé depuis son admission, différents niveaux de risque de devenir porteur de BHRé pour un patient contact peuvent être établis :

- risque faible si le patient a été pris en PCC dès son admission ;
- risque moyen si le patient porteur a été identifié au cours d'hospitalisation, le risque devenant faible si aucun cas secondaire n'a été identifié après 3 dépistages ;
- risque élevé si au moins un patient porteur (cas secondaire) a été identifié parmi les patients contact (situation épidémique), ce risque redevenant moyen si la situation épidémique est complètement maîtrisée (**V.Caverivier 2016**).

V.1.3.Utilisation rationnelle des antibiotiques :

La prescription d'antibiotiques est devenue l'un des actes les plus critiques dans les hôpitaux. Ceci est en relation avec le risque de mauvaise utilisation de ces médicaments et son impact

sur le développement de la résistance bactérienne et l'inefficacité des antibiotiques (**Didouh.M et al 2018**).

L'utilisation rationnelle des antibiotiques constitue donc un point essentiel de la lutte contre l'émergence des micro-organismes résistants qui représentent un risque présent ou futur non seulement pour la personne exposée à un traitement, mais pour la population en général. Elle permet aussi d'éviter des traitements qui présentent des risques non négligeables d'effets indésirables potentiellement graves et de réduire les coûts liés aux médicaments (**V.Von Gunten et al 2004**).

Les conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques pour la santé publique sont doubles. D'une part, l'usage excessif ou inadéquat de ces substances peut accentuer la sélection de bactéries résistantes et d'autre part, il contribue de façon significative à l'augmentation des coûts de la santé. Les interventions visant à garantir l'utilisation appropriée des antibiotiques visent à la fois à réduire l'utilisation des antibiotiques par diminution des infections et réduire l'utilisation inappropriée ou inutile d'antibiotiques chez l'homme et l'animal (**K-K.Holmes et al 2017**).

Différentes mesures sont possibles pour améliorer le bon usage des antibiotiques :

❖ **Mesures éducatives :**

- Rédaction et diffusion de guides ou de protocoles s'appuyant sur des recommandations et adaptés à l'épidémiologie locale,
- Formations et réunions à l'intention des prescripteurs ;

❖ **Mise en place de moyens :**

- Utilisation de systèmes informatiques d'aide à la prescription : mémoires, accès aux recommandations ou aux guides, liaison aux résultats bactériologiques avec informations sur les résistances, alertes qui permettent l'ajustement de l'antibiothérapie sans délai (réévaluation, adaptation à la bactériologie, adaptation du mode d'administration et de la posologie au patient...),
- Réalisation d'audits des pratiques de prescription, ciblés sur une classe d'antibiotiques particulière, un service, un type d'infection... suivis d'une présentation des résultats aux prescripteurs, afin de pointer les pratiques conformes et celles qui sont à améliorer, en rappelant les recommandations,
- Mise en place d'une équipe pluridisciplinaire, composée au minimum d'un infectiologue, d'un microbiologiste et d'un pharmacien ayant du temps dédié au bon usage d'antibiotique,
- Utilisation de tests de diagnostic rapide (TDR) et de dosages de marqueurs spécifiques (procalcitonine) pour orienter le diagnostic et aider à la décision de prescrire des antibiotiques ou non.

❖ **Mesures restrictives :**

- Listes d'antibiotiques réservés à certaines indications et délivrés uniquement sur justification écrite (avec renseignements cliniques et bactériologiques),
- Ordonnances spécifiques comportant seulement les antibiotiques à privilégier (ayant un impact écologique moins important),
- Absence de rendu de résultats de sensibilité pour certains antibiotiques à épargner par le laboratoire de bactériologie (**Haute Autorité de santé 2008 ; C.MacDougall et R-E.Polk 2005**).

V.2. RECOMMANDATIONS ET SOLUTIONS APPORTEES PAR L'OMS :

En mai 2015, l'organisation mondiale de la santé a adopté un plan d'action mondial pour lutter contre les résistances aux antimicrobiens. Ce plan est constitué de 5 objectifs sur lesquels les pays devront se baser pour élaborer leur propre plan de lutte.

Le premier objectif est de mieux faire connaître et comprendre le problème de la résistance aux antimicrobiens grâce à une communication, une éducation et une formation efficaces. L'objectif suivant est de renforcer les connaissances et les bases factuelles par la surveillance et la recherche. Il faut également réduire l'incidence des infections par des mesures efficaces d'assainissement, d'hygiène et de prévention des infections. Le quatrième objectif est d'optimiser l'usage des médicaments antimicrobiens en santé humaine et animale. Enfin dernier objectif, il faut dégager les arguments économiques en faveur d'investissements durables qui tiennent compte des besoins de tous les pays et accroître les investissements dans la mise au point de nouveaux médicaments, outils diagnostiques, vaccins et autres interventions. En dépit des propositions et des initiatives de lutte contre la résistance aux antimicrobiens qui ont vu le jour depuis de nombreuses années, les progrès ont été lents parce que, d'une part, la surveillance et la notification ont été insuffisantes aux niveaux national, régional et mondial et, d'autre part, l'ensemble des pays n'ont pas bien pris conscience de la nécessité d'agir (OMS 2016).

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

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



***PARTIE
PRATIQUE***

CHAPITRE VI
MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE VI : MATERIEL ET METHODES

VI.1.PRESENTATION DE L'ETUDE :

VI.1.1.Protocole, durée et objectifs de l'étude :

Le présent travail a été effectué au niveau du laboratoire central, unité de microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Blida unité Frantz Fanon.

Il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur une période de 04 ans (du 1^{er} Janvier 2016 au 31 Décembre 2019) et portant sur l'ensemble des BMR et des BHRe isolées à partir des différents prélèvements issus de patients hospitalisés dans l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales du CHU Blida.

Les objectifs principaux de ce travail sont les suivants :

- Etablir sur une période de 04 ans (Janvier 2016 - Décembre 2019) l'évolution des taux d'isolement des BMR et des BHRe au sein de l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales (UMC), du centre hospitalo-universitaire de Blida unité Frantz Fanon.
- Révéler l'implication de ces BMR et BHRe dans les infections diagnostiquées chez les malades admis au niveau de ce service.
- Caractériser phénotypiquement les différents mécanismes responsables de l'antibiorésistance chez ces bactéries.

VI.1.2.Critères d'inclusion, d'exclusion et exploitation des données :

Ont été inclus dans l'étude les différentes BMR et BHRe (voir partie théorique) isolées à partir des différents prélèvements issus de patients hospitalisés dans l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales du CHU Blida.

Ont été exclu de l'étude les souches redondantes (doubles) : deux souches isolées chez le même patient et présentant le même antibiotype.

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

VI.2.MATERIEL :

VI.2.1.Matériel 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 (**Annexe VI**).

VI.2.2.Matériel biologique :

Le matériel biologique est représenté par :

- Les souches bactériennes isolées des différents types de prélèvements (hémoculture, liquide céphalorachidienne LCR, urines, des prélèvements distaux protégés PDP, pus et sérosités.....) provenant des patients hospitalisés dans l'unité de réanimation du service des urgences médico-chirurgicales.
- Les souches de référence (ATCC), ces souches sont utilisées pour valider les différents tests effectués.

Les souches de référence utilisées dans notre travail sont citées dans le tableau suivant :

Souches	Référence
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i> SARM - (sensible à l'oxacilline)	ATCC 25923

**Tableau XI : Les souches de référence utilisées au laboratoire de microbiologie.
(Original)**

R ! 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.

- Souche de *K.pneumoniae* connue productrice de carbapénèmase (KPC).

VI.3.METHODES :

VI.3.1.Isolement et identification des souches :

- **Isolement et identification des bacilles à Gram négatif (BGN) :**

L'isolement et l'identification des BGN ont été réalisés par les techniques conventionnelles. Les étapes suivies sont résumées dans l'organigramme ci-dessous :

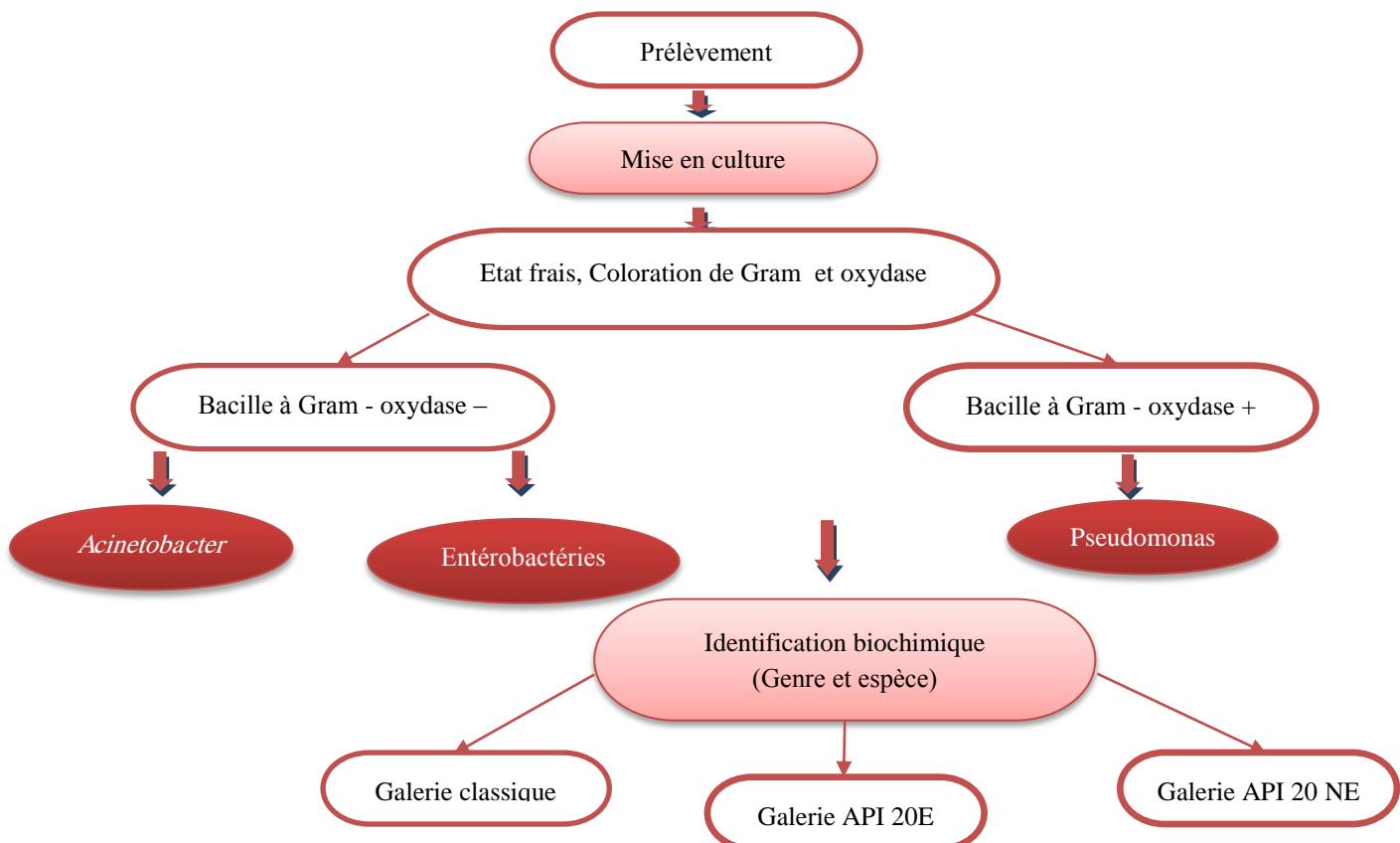


Figure 33 : Les étapes de l'étude bactériologique des BGN. (Originale)

- **Isolement et identification des cocci à Gram positif (CGP) :**

L'isolement et l'identification des CGP ont été réalisés par les techniques conventionnelles. Les étapes suivies sont résumées dans l'organigramme ci-dessous :

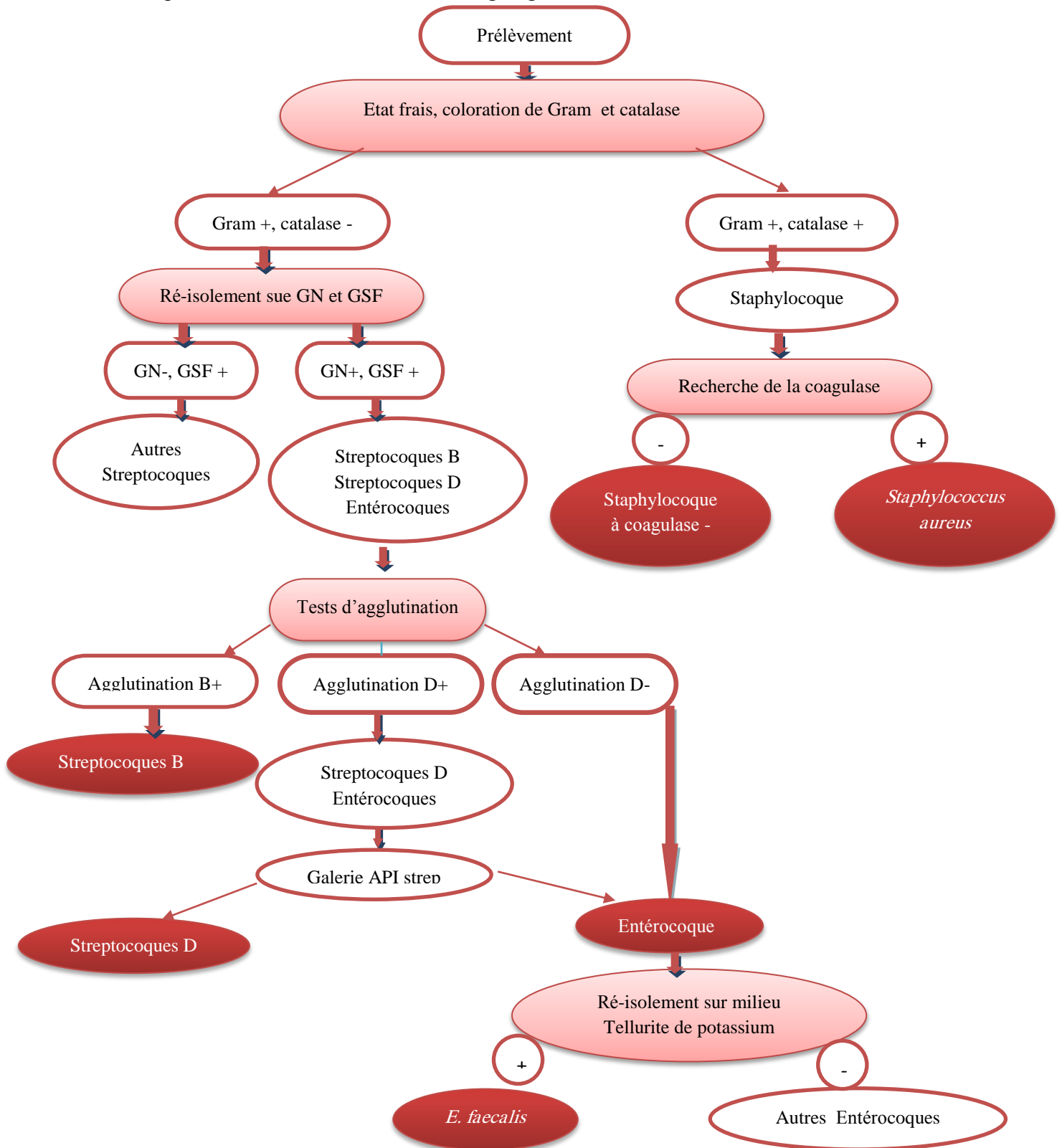


Figure 34 : Les étapes de l'étude bactériologique des CGP. (Originale)

VI.3.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

Chaque bactérie identifiée et incriminée a bénéficié d'une étude de la sensibilité aux antibiotiques par l'antibiogramme standard selon la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé selon les normes du CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) 2014 et recommandé par l'OMS (Annexe I).

VI.3.3. Caractérisation phénotypiques des mécanismes d'antibiorésistance :**VI.3.3.1. Détection de la résistance de *Staphylococcus aureus* à la méticilline :**

La détection des souches de *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de disque de cefoxitine chargé de 30 μ g (FOX) au niveau de l'antibiogramme standard des Staphylocoques.

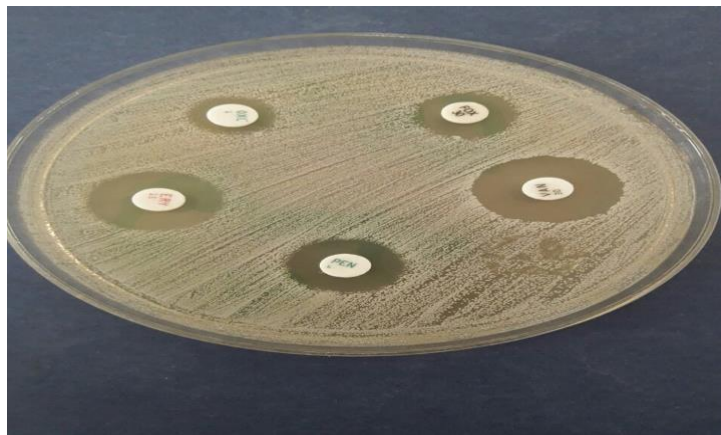


Figure 35: Antibiogramme standard des *Staphylococcus aureus* (FOX). (Originale)

VI.3.3.2. Détection de *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides :

La détection de *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides a été effectuée par la détermination de la CMI à la vancomycine par technique de dilution en milieu gélosé (Annexe I).

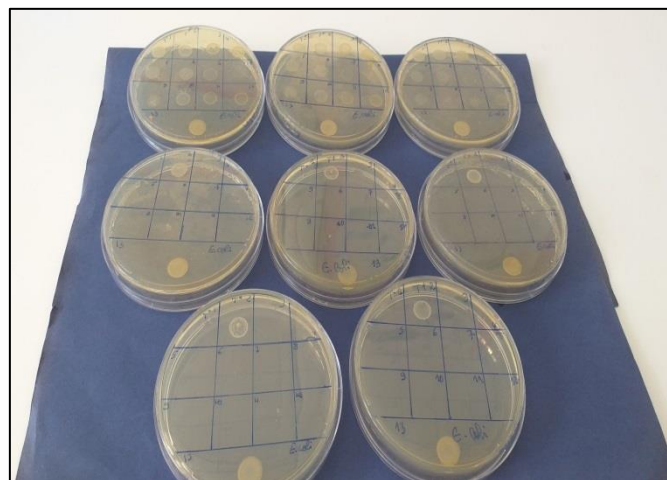


Figure 36: CMI à la vancomycine, technique de dilution en milieu gélosé *Staphylococcus aureus*. (Originale)

VI.3.3.3. Détection de la résistance aux C3G chez les Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* :

La détection de la résistance aux C3G chez les Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de disque de cefotaxime (CTX 30 μ g) ou ceftriaxon (CRO 30 μ g) pour les Entérobactéries et céftazidime (CAZ 30 μ g) pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* au niveau de l'antibiogramme standard.

La caractérisation phénotypique de mécanisme de résistance aux C3G a été effectuée par la recherche de la production de la BLSE uniquement par :

a) Test de synergie :

La recherche de la production de la BLSE se fait par test de synergie dans les conditions standards de l'antibiogramme (selon les recommandations de la CLSI) en déposant un disque :

- d'amoxicilline + Ac. clavulanique (AMC 20/10 μ g) à 30 mm centre à centre d'un disque de C3G (CTX 30 μ g ou CRO 30 μ g) pour les Entérobactéries.
- de ticarcilline +acide clavulanique (TCC 75/10 μ g) à 30 mm (centre à centre) d'un disque de C3G : céftazidime (CAZ 30 μ g), ou aztréonam (ATM 30 μ g) pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.



**Figure 37 : Entérobactérie productrice de BLSE.
Test de synergie positif. (Originale)**

b) Test de double disque :

C'est un test de confirmation des BLSE, ce test est fait pour les souches qui ne présentent pas une image de synergie, avec diminution des diamètres des céphalosporines de 3^{ème} génération.

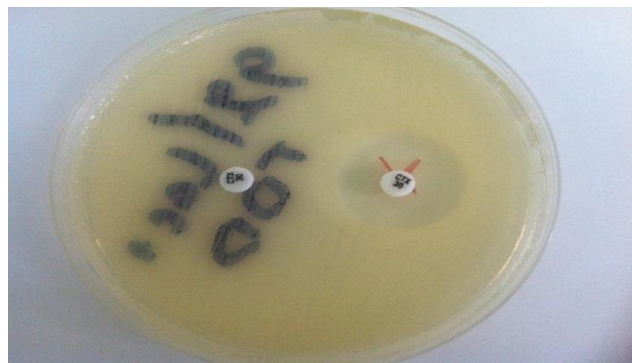


Figure 38: Test de double disque positif. (Originale)

VI.3.3.4. Détection de la résistance aux carbapénèmes chez les Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* :

La recherche des souches d'Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* résistantes aux carbapénèmes a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de disque d'imipénème chargé de 10 μ g (IMP) et /ou ertapénème chargé de 10 μ g pour les Entérobactéries et l'imipénème chargé de 10 μ g pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* au niveau de l'antibiogramme standard .

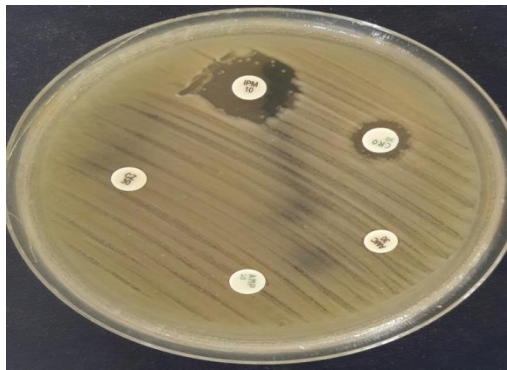
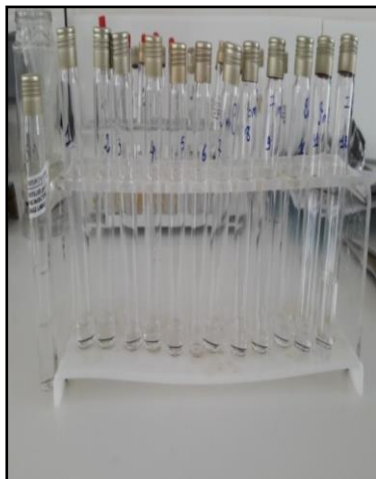


Figure 39: Antibiogramme standard des Entérobactéries (IMP). (Originale)

La confirmation de la résistance aux carbapénèmes a été effectuée par la détermination de la CMI à l'imipénème par technique de dilution en milieu gélosé et/ou l'E-test.

a) Détermination de la CMI à l'imipénème par technique de dilution en milieu gélosé :

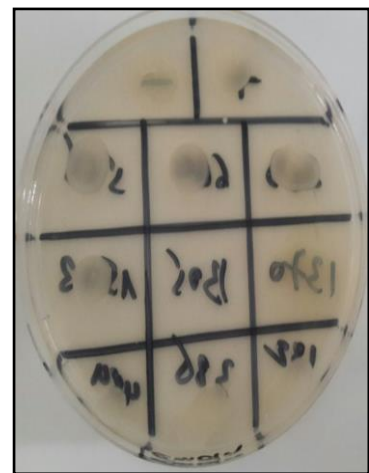
La méthode de dilution est effectuée en milieu gélosé. Elle consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison 2 (Annexe I).



Préparation des dilutions



Préparation des milieux



Lecture des CMI

Figure 40 : CMI technique de dilution en milieu gélosé. Entérobactéries (Originale)

b) Détermination de la CMI à l'imipénème par technique de l'E-test :

Cette technique, utilisant des bandelettes imprégnées d'un gradient de concentration d'antibiotique, permet d'obtenir simplement et rapidement une détermination de la CMI, dans les mêmes conditions que l'antibiogramme standard (**Annexe I**).

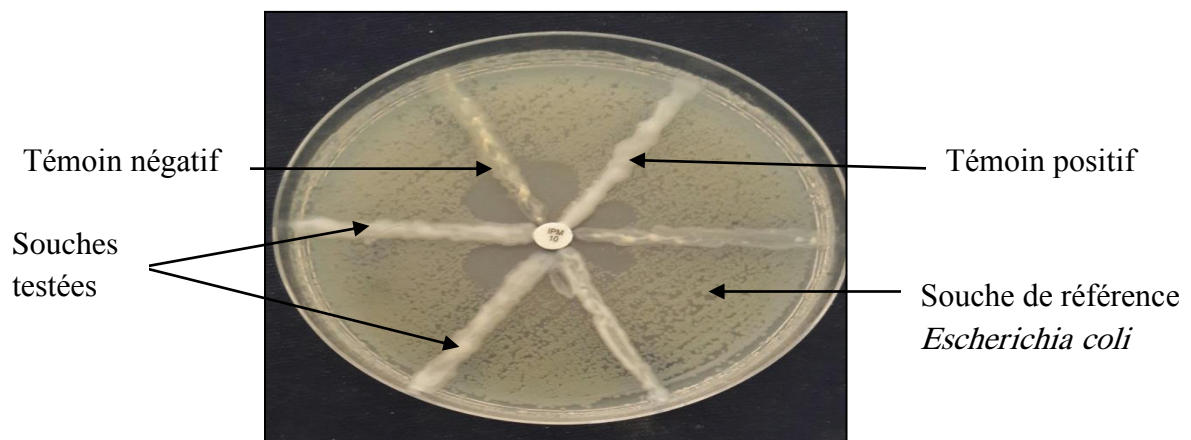


**Figure 41: CMI bandelette de l'IMP.
Entérobactéries (Originale)**

c) Détection de la production de carbapénémase :

Une souche d'Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* est susceptible d'être productrice de carbapénémases si elle présente l'un des signes d'appel (Voir Chapitre III et IV):

La détection de la production du carbapénémase a été effectuée par le test de Hodge modifié qui est la méthode phénotypique actuellement recommandée par le CLSI.



**Figure 42: Test de Hodge modifié
Entérobactéries. (Originale)**

La détermination du type de carbapénémase a été effectuée par le test de disque combiné à l'EDTA. Ce test est fait pour mettre en évidence la production des carbapénémases de la classe B d'Ambler MBL (métaallo-Bêta-lactamases) qui confèrent une résistance à l'imipénème, inhibées par l'EDTA (chélateur).

Cette technique, utilisant deux disques de 10 µg d'imipénème dont l'un contient en plus 10µg d'une solution de l'EDTA dans les mêmes conditions que l'antibiogramme standards.

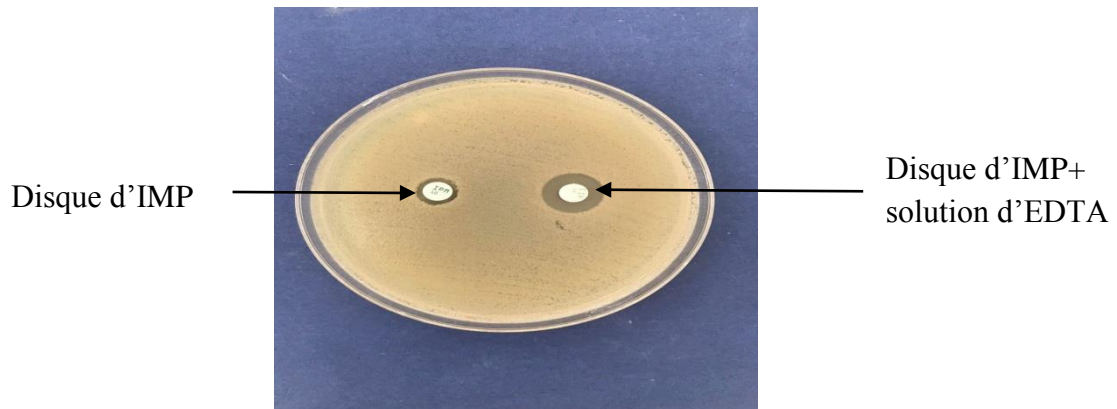


Figure 43 : Test de disque combiné à l'EDTA. (Originale)

VI.3.3.5. Recherche de la résistance des Entérocoques aux glycopeptides :

La recherche des souches d'Entérocoques résistants aux glycopeptides a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de disque de vancomycine chargé de 30 μ g (VAN) et un disque de ticoplanine chargé de 30 μ g (TEC) simultanément au niveau de l'antibiogramme standard des Entérocoques .

L'antibiogramme a été effectué par la méthode de diffusion des disques préconisé par CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) 2014 et recommandé par l'OMS (**Annexe I**).

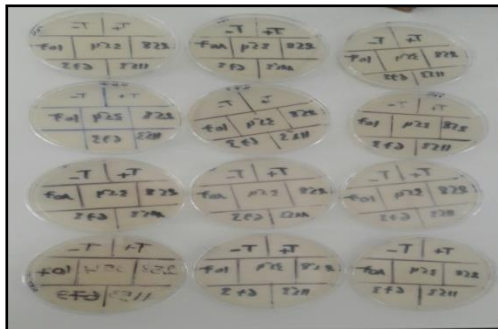


Figure 44: Antibiogramme standard des Entérocoques (VAN et TEC). (Originale)

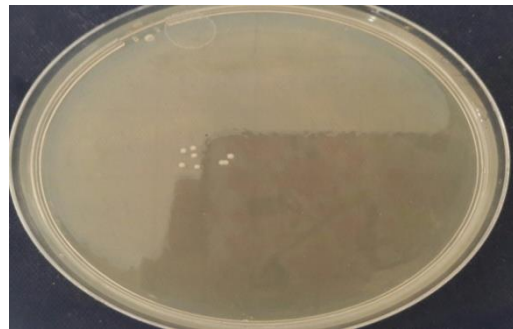
Un Entérocoque est susceptible d'être résistant aux glycopeptides s'il présente l'un des signes d'alerte (Voir chapitre IV).

La confirmation de la résistance aux glycopeptides a été effectuée par la détermination de la CMI aux glycopeptides par technique de dilution en milieu gélosé et/ou l'E-test.

- Détermination de la CMI à la vancomycine par technique de dilution en milieu gélosé:



Préparation des milieux



Lecture des CMI

Figure 45: CMI vancomycine Entérocoque
Technique de dilution en milieu gélosé. (Originale)

-Détermination de la CMI à la vancomycine par technique de l'E-test :

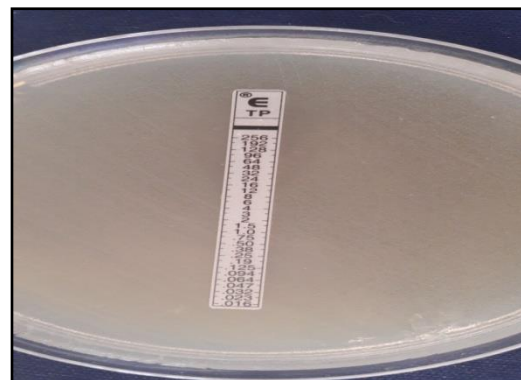
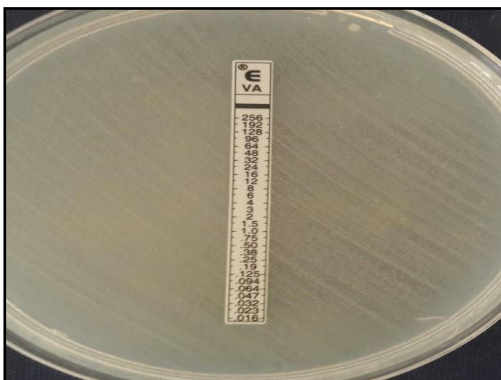


Figure 46: CMI bandelette de VAN et TEC
Entérocoque (Originale)

CHAPITRE VII
RESULTATS

CHAPITRE VII : RESULTATS

Les résultats obtenus durant notre travail se répartissent en deux volets :

- Résultats de l'étude des BMR.
- Résultats de l'étude des BHR.

VII.1.RESULTATS DE L'ETUDE DES BMR :

VII.1.1.Taux de BMR isolées :

Durant la période de l'étude, **1451** souches bactériennes provenant de différents types de prélèvements, issus de patients hospitalisés dans l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales du CHU Blida ont été isolées, sur ces **1451** souches **618** étaient des BMR soit un taux de **42.59%**.

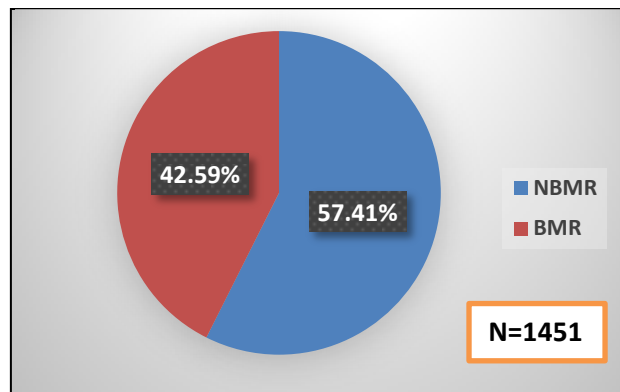


Figure 47 : Taux des BMR isolées au sein de l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales du CHU Blida.

BMR : Bactéries multirésistantes. **NBMR** : Souches autres que BMR (Non BMR).

VII.1.2.Répartition des BMR isolées selon le type de BMR :

Sur les quatre années d'étude, on note que les BMR qui prédominent sont les Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (**ERC3G= 320 souches**), suivie de l'*A.baumannii* multi-résistant (**ABMR= 234 souches**) puis *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (**SARM= 37 souches**) et enfin de *P.aeruginosa* multi-résistant (**PAMR=27 souches**). A signalé l'absence d'isolement de *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides (**GISA/VISA**).

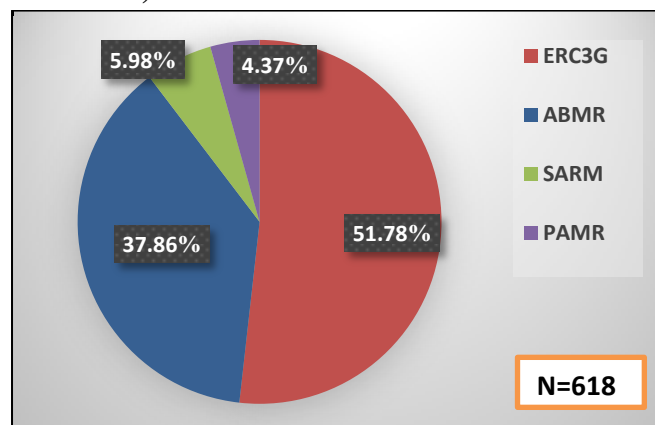


Figure 48 : Répartition des BMR isolées selon le type de BMR.

VII.1.3. Proportion de la résistance par BMR :

Pour ce qu'est de la proportion de la résistance aux seins de chaque BMR, nous avons constaté une nette prédominance **ABMR** parmi les *A.baumannii* (**234** souches sur **267**) avec un taux de **87,64%** et d'Entérobactéries résistantes aux C3G dont **320** souches sur **492** Entérobactéries étaient **ERC3G** soit un taux de **65,04%**.

BMR	Nombre	Taux %
ABMR	234/267	87,64
ERC3G	320/492	65,04
SARM	37/124	29,83
PAMR	27/173	15,60
GISA /VISA	00/124	00,00
BMR	618/1451	42.59

Tableau XII : Proportion de la résistance par BMR.

VII.1.4. Répartition des BMR isolées selon le type de prélèvement :

580 prélèvements provenaient de l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales du CHU Blida ont contenu des BMR.

Ces BMR ont été isolées principalement à partir des PDP avec **228** prélèvements soit un taux de **39.31%**, puis les hémocultures avec **119** prélèvements soit un taux de **20.51%** suivi par les secrétions bronchiques avec **77** prélèvements soit un taux de **13.27%**.

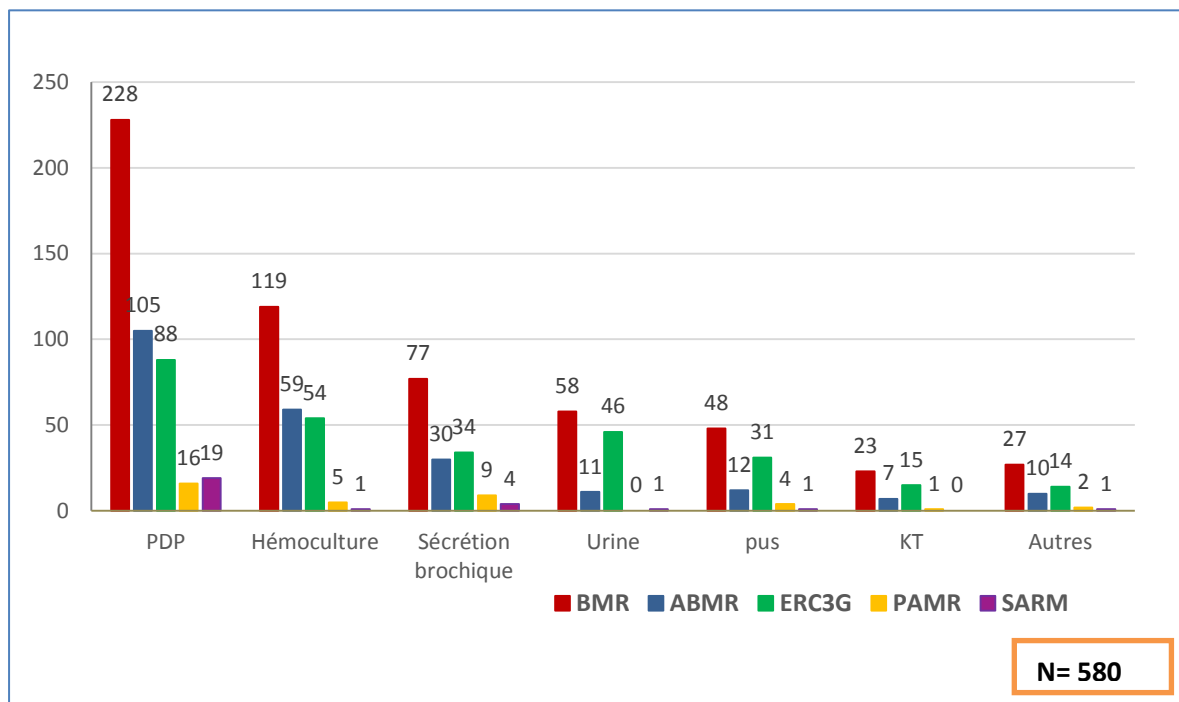


Figure 49 : Répartition BMR selon le type de prélèvement.

VII.1.5. Répartition du taux des BMR isolées par année :

Les **618** souches de BMR isolées durant la période de l'étude sont réparties comme suit : **143/378 (37.83%)** souches en **2016**, **143/407 (35.13%)** souches en **2017**, **144/335 (42.98%)** souches en **2018** et **188/331 (56.79%)** souches en **2019**.

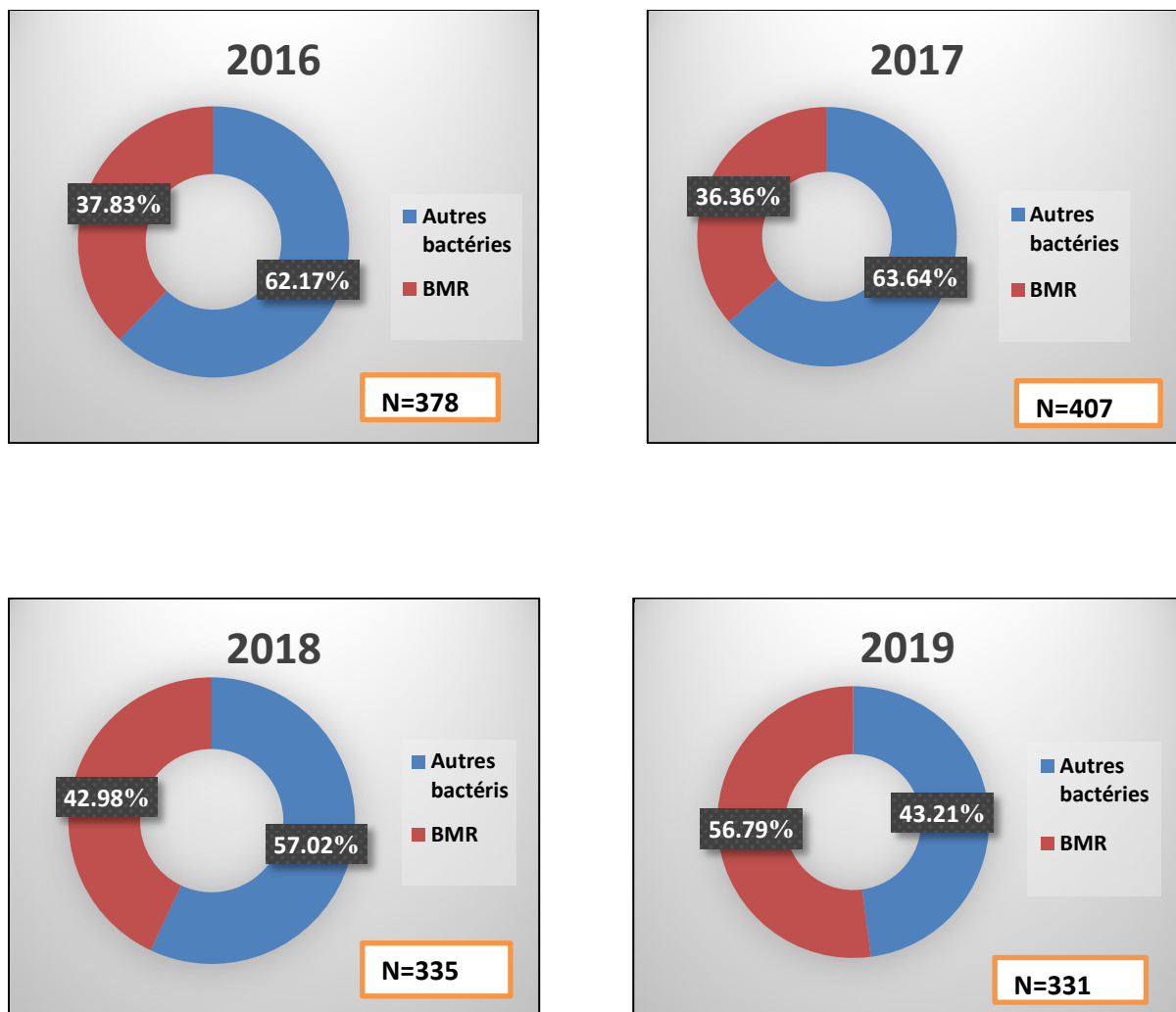


Figure 50 : Répartition des souches de BMR isolées par année d'isolement.

VII.1.6. Evolution des taux des BMR isolées entre 2016 et 2019 :

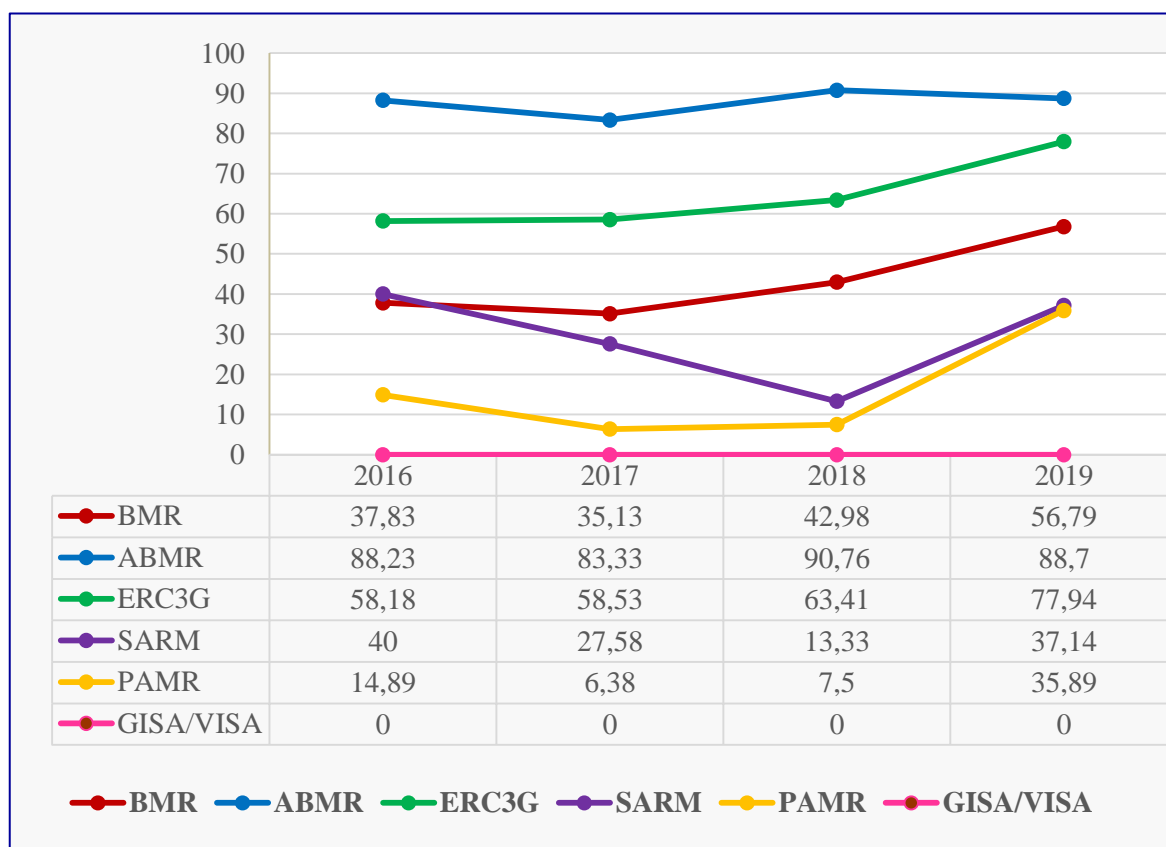


Figure 51 : Evolution des taux des BMR isolées entre 2016 et 2019.

Durant les quatre années de l'étude, on remarque que le taux des BMR était relativement stable entre 2016 et 2017 puis il a augmenté pour qu'il atteigne **56.79%** en 2019.

En revanche notons une diversité de l'évolution de taux selon le type de BMR à savoir :

- Le taux d'ABMR est très élevé mais relativement stable, il varie entre **83.33 %** et **90,76%**.
- Une nette augmentation de taux des ERC3G de **58,18%** en 2016 jusqu'à **77,94%** en 2019.
- Une nette diminution du taux de SARM de **40%** en 2016 à **13,33%** en 2018 ensuite une augmentation du taux pour qu'il atteigne **37,14%** en 2019.
- Une baisse de PAMR de 8,51% en 2017, puis une nette augmentation en 2019 (**35,89%**).
- Enfin, on peut voir que le taux des GISA/VISA est stable (**00%**).

VII.1.7. Répartition des ERC3G selon l'espèce :

Durant la période de l'étude, sur un total de **320** souches d'ERC3G isolées des différents types du prélèvement, la *K.pneumoniae* est l'espèce prédominante avec **169** souches suivie d' *E.coli* (**33** souches) , *P.miarabilis* (**28** souches), *E.cloacae* (**26** souches), *Serratia marcescens* (**18** souches) puis les autres espèces.

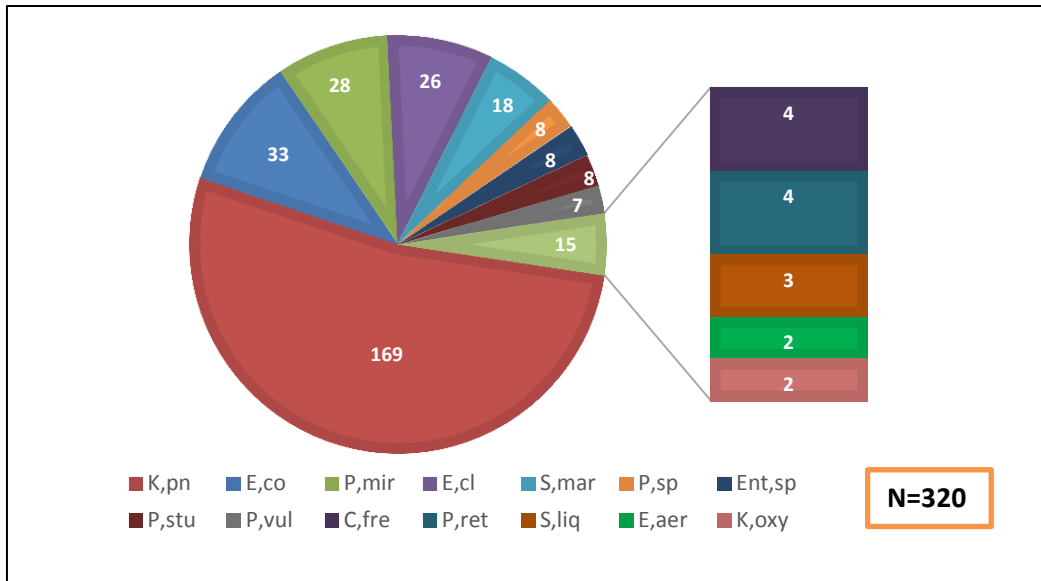


Figure 52 : Répartition des ERC3G isolées selon l'espèce.

Répartition des ERC3G isolées selon l'espèce par année montre que la *K.pneumoniae* est l'espèce majoritaire pour les quatre années de l'étude.

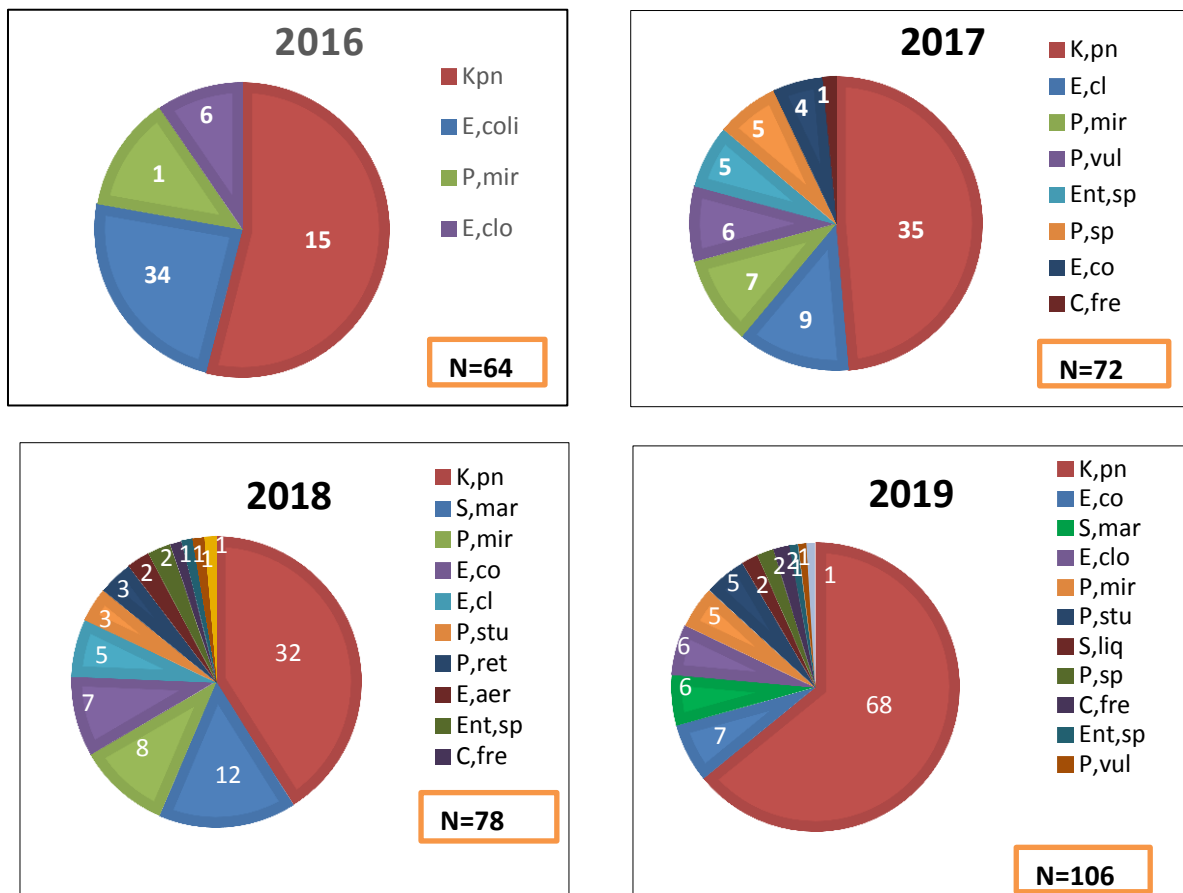


Figure 53 : Répartition des ERC3G isolées selon l'espèce par année.

K.pn: *Klebsiella pneumoniae* ; **E.co:** *Escherichia coli* ; **P.mi:** *Proteus mirabilis* ; **E.clo:** *Enterobacter cloacae* ; **S.mar:** *Serratia marcescens* ; **P.sp:** *Proteus sp* ; **Ent.sp:** *Enterobacter sp* ; **P.stu:** *Providencia stuartii* ; **P.vul:** *Proteus vulgaris* ; **C.fre:** *Citrobacter freundii* ; **P.ret:** *Providencia rettgeri* ; **S.liq:** *Serratia liquefaciens* ; **E.aer:** *Enterobacter aerogenes* ; **K.oxy:** *Klebsiella oxytoca*.

VII.1.8. Répartition des ERC3G selon la production de la BLSE :

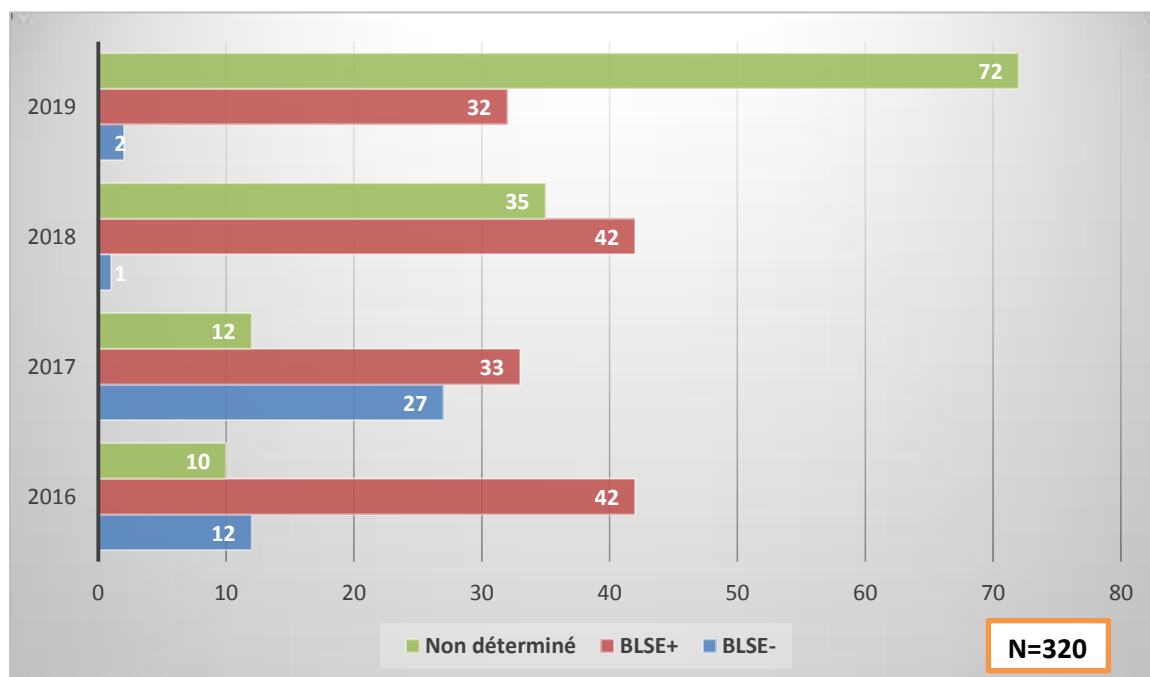


Figure 54 : Répartition des ERC3G selon le profil BLSE.

La répartition des ERC3G selon la production de la BLSE montre que pour les trois premières années de l'étude le principal mécanisme de résistance aux C3G chez les Entérobactéries est la production de la BLSE.

Tandis que pour l'année 2019, vu le nombre élevé des souches où la détermination de la production de la BLSE n'a pas été effectuée le mécanisme de résistance aux C3G reste inconnu.

R !

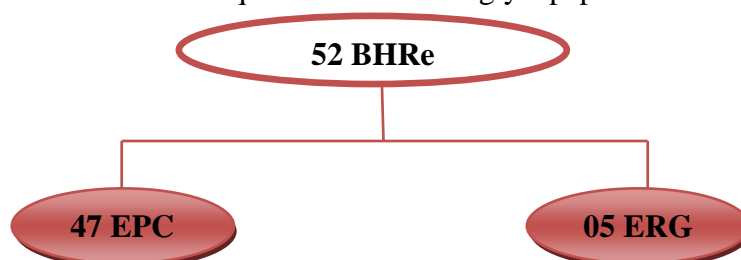
Le test à la cloxacilline n'a pas été effectué pour l'ensemble des ERC3G et pour un très grand nombre de souches de *P.aeruginosa* et *A.baumannii* résistantes aux C3G.

La détermination de la production de la BLSE n'a pas été effectuée pour un très grand nombre de souches de *P.aeruginosa* et *A.baumannii* résistantes aux C3G.

VII.2. RESULTATS DE L'ETUDE DES BHRé :

VII.2.1. TAUX DE BHRé ISOLEES:

Durant la période de l'étude, 52 BHRé ont été isolées, dont 47 Entérobactéries productrices de carbapénèmases et 05 Entérocoques résistants aux glycopeptides.



VII.2.2.RESULTATS DE L'ETUDE DES EPC :

VII.2.2.1.Taux des EPC :

Durant la période d'étude, **492** souches d'Entérobactéries provenant de différents types de prélèvements issus de patients hospitalisés dans l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales du CHU Blida ont été isolées, sur ces **492** Entérobactéries, **60** présentaient une résistance à l'un des carbapénèmes testés, dont **47** souches étaient productrices de carbapénèmases (test de Hodge modifié +) soit un taux de **09,55 %**.

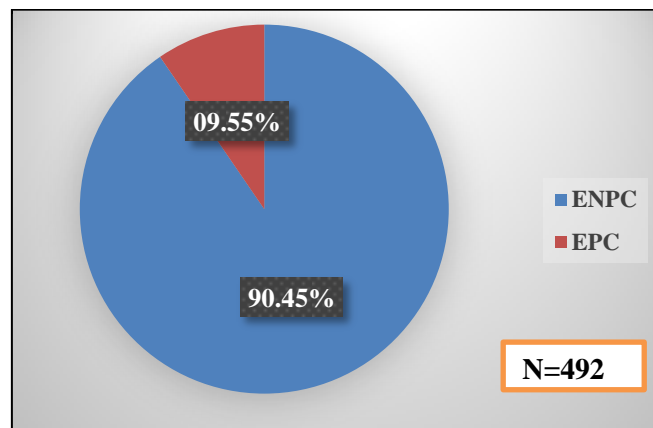


Figure 55 : Taux des Entérobactéries productrices de carbapénèmases.

ENPC : Entérobactéries non productrices de carbapénèmases.

EPC : Entérobactéries productrices de carbapénèmases.

VII.2.2.2.Répartition des Entérobactéries productrices de carbapénèmases selon le type de prélèvement :

La grande majorité des Entérobactéries productrice de carbapénèmases isolées durant les quatre ans de notre étude provenait des PDP et des hémocultures.

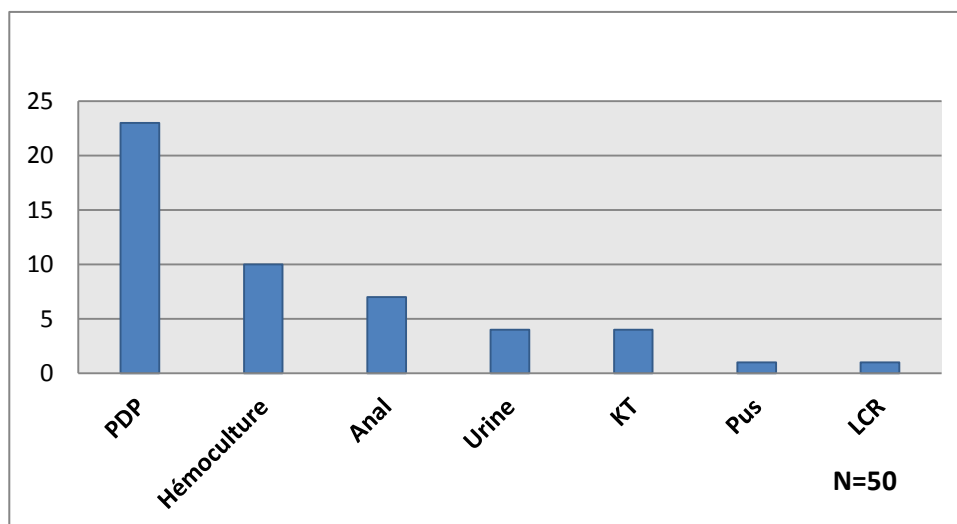


Figure 56 : Répartition des EPC selon le type de prélèvement

VII.2.2.3. Répartition des Entérobactéries productrices de carbapénèmases selon l'espèce:

Durant la période de l'étude, sur un total de **47** souches d'EPC isolées des différents types du prélèvement, la *K.pneumoniae* est l'espèce prédominante avec **41** souches suivi de *P.miarabilis* (3 souches).

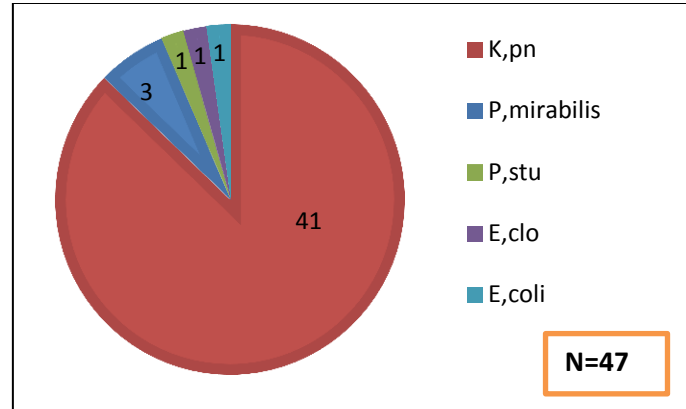


Figure 57 : Répartition des EPC selon l'espèce.

K.pn: *Klebsiella pneumoniae* ; **P.mirabilis:** *Proteus mirabilis* ; **E.clo:** *Enterobacter cloacae* ; **E.coli:** *Escherichia coli* ; **P.stu:** *Providencia stuartii*.

VII.2.2.4. Résultats de la détermination du type de carbapénèmase :

La détermination du type de carbapénèmase a été réalisée pour toutes les souches EPC, ceci a été fait par le test à l'EDTA qui a montré que **38** souches sur les **47** étaient EDTA positif.

VII.2.2.5. Evolution des taux des EPC isolées entre 2016 à 2019 :

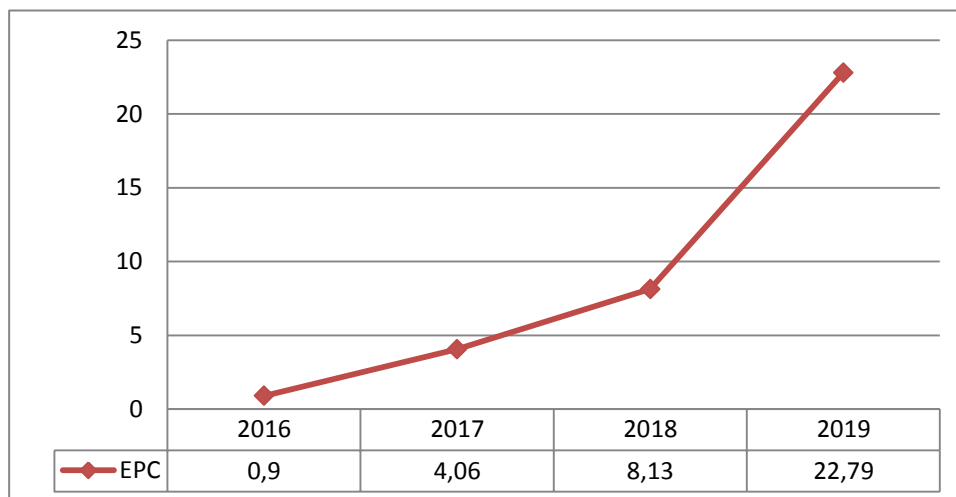


Figure 58 : Evolution des taux des EPC isolées entre 2016-2019.

Nos remarquons que les taux des EPC sont en nette augmentation, avec un taux élevé en 2019 où il a atteint **22,79%**.

VII.2.3.RESULTATS DE L'ETUDE DES ERG :

VII.2.3.1.Taux des ERG :

Durant la période de l'étude, sur un total de **91** souches d'Entérocoques isolées des différents types du prélèvement, **05** souches se sont révélées résistantes aux glycopeptides, soit un taux de **5.49%**.

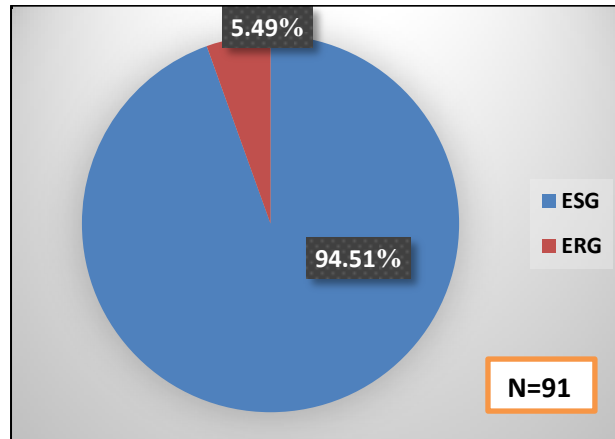


Figure 59 : Taux des Entérocoques résistants aux glycopeptides

ESG : Entérocoques sensibles aux glycopeptides.

ERG : Entérocoques résistants aux glycopeptides.

VII.2.3.2.Répartition des Entérocoques résistants aux glycopeptides selon le type de prélèvement et l'espèce :

La répartition des Entérocoques résistants aux glycopeptides selon le type de prélèvement et l'espèce est résumée dans le tableau suivant :

Numéro de souches	Espèce isolée	Prélèvement
1	<i>E.faecium</i>	Hémoculture
2	<i>E.faecium</i>	Hémoculture
3	<i>E. faecium</i>	Hémoculture Pvt rectal
4	<i>E. faecium</i>	Pus de plaie Pvt rectal
5	<i>Enterococcus .sp</i>	Escarre

Tableau XIII : Répartition des ERG selon l'espèce et le type de prélèvement.

Dans cette étude, on note que :

- Les principaux sites d'isolement des ERG sont les hémocultures et les pus.
- Une nette prédominance de l'espèce *E. faecium* avec **04** souches sur les **05 ERG** isolées.

VII.2.3.3. Evolution du taux des ERG isolées entre 2016 et 2019 :

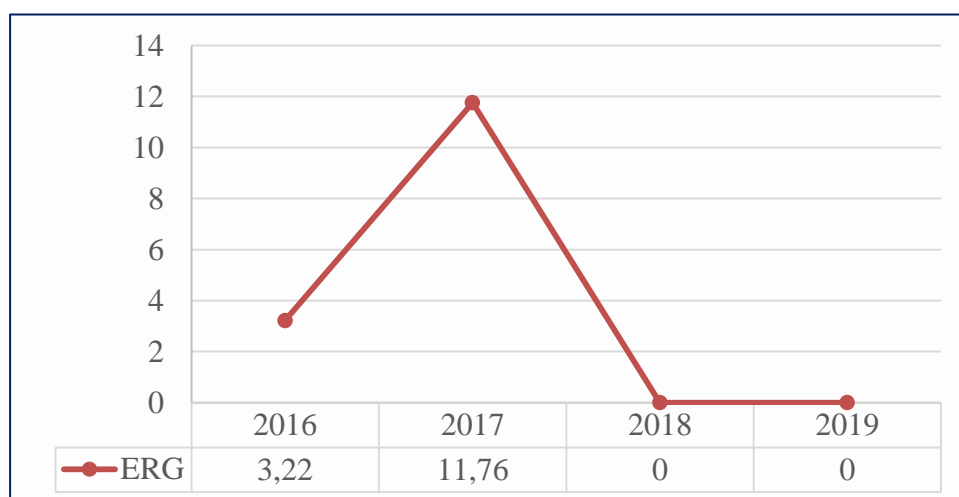


Figure 60 : Evolution des taux des ERG isolés entre 2016-2019.

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une augmentation importante des taux des ERG de 2016 à 2017 (de 3,22% jusqu'à 11,76%), puis disparitions des ERG dans les deux dernières années.

VII.2.4.4. Entérocoques résistants aux glycopeptides et résistances associées :

Le tableau ci-après résume les résultats de l'antibiorésistance des souches de l'ERG :

Molécules	Nombres de souches		
	Résistantes	Sensibles	Non testées
Ampicilline (AMP)	3	1	1
Tétracycline (TCY)	2	1	2
Gentamycine (GN)	1	1	3
Ciprofloxacine (CIP) ou Lévofloxacine (LVX)	3	0	2
Erythromycine (ERY)	4	0	1
Chloramphénicol (CHL)	1	3	1
Quinupristine- Dalfopristine (QDF) ou Pristinamycine (PRI)	1	1	3
Rifampicine (RIF)	4	1	0
Vancomycine (VAN)	5	0	0
Teicoplanine (TEC)	3	2	0

Tableau XIV : Entérocoques et antibiorésistance :

Durant la période de l'étude, toutes les souches de l'ERG isolées étaient résistantes à la vancomycine, alors que deux souches étaient sensibles à la teicoplanine.

On note un taux de résistance élevé vis-à-vis de la rifampicine, l'ampicilline et la ciprofloxacine.

CHAPITRE VIII
DISCUSSION

CHAPITRE VIII : DISCUSSION

Les infections à BMR sont un problème majeur à l'hôpital, particulièrement dans les services de réanimation. En effet, elles prolongent la durée de séjour et aggravent le pronostic des malades hospitalisés (C. Auboyer 2003). Les résultats de plusieurs enquêtes montrent que la plus grande prévalence de BMR se trouve en réanimation (C.Auboyer 2003).

Ainsi, nous avons effectué une étude rétrospective sur les BMR et les BHRé au sein de l'unité de réanimation du service des UMC du CHU Blida afin de voir l'évolution du taux de ces bactéries, d'évaluer leur implication en pathologie et d'étudier leur mécanisme de résistance aux antibiotiques.

Durant la période de l'étude, 1451 souches bactériennes provenant de différents types de prélèvements, issus de patients hospitalisés dans l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales du CHU Blida ont été isolées, dont 618 étaient des BMR soit un taux de **42.59%**. Ce taux est proche à celui d'une étude faite au Maroc afin de décrire le profil épidémiologique et le profil de résistance des BMR isolées au niveau du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech (Z.Amhal 2017). Un taux plus élevé a été retrouvé (66 %) dans une étude réalisée au niveau de l'unité de soins intensifs du CHU-Benbadis Constantine (W.Ghouil et al 2011).

Nous avons constaté une nette prédominance d'Entérobactéries résistantes aux C3G avec un taux de **51.78%**. Nos résultats ne concorde pas avec ceux de plusieurs études internationales qui rapportent que le germe multi-résistant le plus isolé au niveau des services de réanimation est *A.baumannii* (M.Elouannass et al 2003, A. Trifi et al 2017) et d'autre part des études européennes rapportent toujours le SARM comme principal BMR, en raison de l'efficacité des mesures de lutte contre l'infection nosocomiale dans ces pays (S.Zouagui et al 2015).

Notre étude rapporte que les BMR ont été isolées principalement à partir des PDP avec un taux de **39.31%** (228/580). Les germes multi-résistants isolés à partir de ce dernier étaient surtout des BGN, dominés par l'ABMR (105/228). Nos données sont similaires aux résultats de l'étude de Amhal.Z où les BMR ont été isolées des différents sites avec prédominance au niveau des PDP dont le taux était de 66% (Z.Amhal 2017).

L'installation des BMR en réanimation s'est faite dès la première année qui a suivi l'inauguration de l'unité (Mai 2015), ces germes ont continué à sévir l'année après l'autre, en effet, le taux de ces derniers était de **37.83%** (143/378) en 2016, **35.13%** (143/407) en 2017, **42.98%** (144/335) en 2018 et **56.79%** (188/331) souches en 2019. Nous avons remarqué une augmentation importante de taux BMR entre 2018 et 2019 où la moitié des bactéries isolés étaient des BMR, ceci est très inquiétant des mesures préventives est de mise.

Les données des réseaux de surveillance des BMR (EARS) concernant les Entérobactéries résistantes aux C3G, rapportent que leur fréquence est en augmentation continue depuis 2002 avec une prédominance d'*Escherichia coli* (Réseau d'alerte d'investigation de surveillance des infections nosocomiales 2007-2009 ; Réseau BMR-Raisin 2012 ; ONERBA 2015).

Il ressort de notre étude que le taux d'Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération est en augmentation rapide, passant de **58.18%** en 2016 à **77.94 %** en 2019. Avec prédominance de l'espèce *K.pneumoniae* (169 souches sur 320) suivie d'*E. coli* (33 souches), *P.miarabilis* (28 souches), *E.cloacae* (26 souches), *Serratia marcescens* (18 souches). Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par J-C. Lucet et L. Bouadma où l'augmentation de taux d'ERC3G était de 17,2 % en 2004 à 35,9 % en 2013. L'analyse détaillée des Entérobactéries productrices de BLSE à montre qu'il s'agit d'une épidémie d'*Escherichia coli* BLSE, souvent importés en réanimation, mais aussi d'acquisition fréquente d'Entérobactéries BLSE hospitalières, principalement *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* (**J-C. Luset et L.Bouadama 2015**). Pour ce qu'est de notre étude un nombre important de *Klebsiella pneumoniae* a été isolé durant l'année 2019 qui avaient le même antibiotype laissant suggérer qu'il s'agit probablement d'un même clone (épidémie), un typage moléculaire serait nécessaire pour identifier les relations clonale entre les isolats.

Le mécanisme de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération chez les Entérobactéries est enzymatique par production de bêta-lactamase à spectre élargi ou une céphalosporinase hyperproduite ou les deux. Dans notre étude la détermination de mécanisme de résistance n'a été effectuée que pour 129 souches sur les 320 (recherche de la production de la de bêta-lactamase à spectre élargi) ce qui ne nous permis pas de comparer nos résultats. . En effet, ces ERC3G par production de BLSE constituent une vraie menace à l'échelle mondiale et sont endémiques un peu partout dans l'Afrique du nord notamment dans les pays du Maghreb et en Europe (**K.Rahal et al 2017 ; ONERBA 2015**).

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) (**ES.Moland et al 2006, D.Pittet et al 2006**), la résistance naturelle et la grande diversité des plasmides confèrent à la bactérie un grand potentiel d'acquisition des résistances (**El Ghazouani.G et al 2010, M.Elouannass et al 2003**).

A notre niveau, le taux d'ABMR est très élevé mais relativement stable, il varie entre **83.33%** et **90.76%**.Ce résultat est similaire à ceux de plusieurs études notionnel qui ont montré que ABMR se trouve à des taux très élevés au niveau des unités de soins intensive (**W Mezaghcha .W et al 2014, Azzam.A et al 2011**).

Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) s'est disséminé progressivement dans la majorité des établissements de soins à l'échelle mondiale (**Sadsad et al, 2013**) avec une récente diffusion communautaire (**Al- Ruaily et al 2011 ; Ben Saida et al, 2005 ; Mehndiratta et al 2012**).La résistance à la méticilline durant la période de notre étude est de l'ordre de **29.83%**. Ce taux est relativement faible par rapport à celui rapporté par l'équipe de Constantine où 91% des *S.aureus* étaient des SARM (**Ghouil.W et al 2011**). Les données sur le SARM semblent plus hétérogènes selon les pays (**E.Forestiera 2007**). 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

(S.Elhamzaoui et al 2009). Les Centres for Disease Control and Prevention (CDC) et the national nosocomial infection surveillance system (NNIS), ont constaté une augmentation progressive de la prévalence des SARM entre 1989 et 2003 où les SARM sont responsables de près de 60% des infections nosocomiales à Staphylocoques dans les services de soins intensifs et de réanimation et des études européennes situent toujours le SARM comme principal germe multi-résistant malgré la baisse ces dernières années de son incidence (J.Carlet et A.Benali 2006 ; D.Lepelletier 2006).

Le *P. aeruginosa* est un microorganisme fréquemment impliqué dans la survenue d'IN dans les services de réanimation, où il évolue par bouffées épidémiques sur un fond endémique (V.Aloush 2006).

Notre étude a montré que le *P.aeruginosa* multirésistant représente **4.3%** des BMR isolées dans le service de réanimation polyvalente.

Nous avons constaté une différence entre les taux d'isolement des deux BGN non fermentaires, où on note une dominance d'*A.baumannii* (234 souches isolées) par rapport à *P.aeruginosa* (27 souches). Cette différence peut être interprétée par la présence d'une compétition entre ces deux espèces ou à l'écologie bactérienne du service (V.Aloush 2006).

Les bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRe), qui ont été découvertes il y a plus de 20 ans, n'ont pas cessé de voir leur fréquence augmenter ces dernières années. A ce jour, elles ont été responsables de plusieurs épidémies hospitalières, principalement des colonisations digestives et font craindre des impasses thérapeutiques en cas d'infection (CCLIN ARLIN 2016).

Au cours de la période d'étude, sur les 492 souches d'Entérobactéries isolées 60 présentaient une résistance à l'un des carbapénèmes testés et 47 souches étaient productrices de carbapénémases soit un taux de **09,55 %**. Ce taux est plus élevé par rapport au taux national, selon les données du réseau national de la surveillance de la résistance aux antibiotiques (AARN) sur un total de 1536 souches d'Entérobactéries isolées en 2016 et 2017, 24 souches étaient productrices de carbapénémases, soit un taux de 1,56% (AARN 2017, 2018).

En ce qui concerne les ERG, dans notre pays, l'isolement d'un ERG est rare (M.Hamidi et al 2013). Nous avons constaté d'après notre étude que le taux des ERG est élevé il est de l'ordre de **5,49%**, ce dernier est un peu bas par rapport aux données d'AARN dont le taux d'ERG était de 7,16% en 2016 et 2017 (AARN 2017, 2018). En France, la proportion de résistance à la vancomycine chez les Entérocoques isolés en milieu hospitalier est stable depuis plusieurs années, estimée à moins de 2% depuis 2007, bien que des épidémies aient été régulièrement signalées. En 2012, les Entérocoques représentaient 6,9% des microorganismes isolés lors d'infections nosocomiales en établissements de santé (M.Subiros et al 2016).

Ce taux élevé de BHRé peut être expliqué par la présence chez les patients hospitalisés au niveau du service de réanimation de facteurs prédisposant à l'infection par ces bactéries, à savoir :

- l'immunodépression ;
- la notion de prise antérieure d'antibiotiques à large spectre (**M. Abass et al 2012**).

Les EPC ont été isolées principalement à partir des PDP (23/25) suivi par l'hémoculture (10/25) et les prélèvements anaux (7/10). Cette constatation est différente de celui de :

- L'étude réalisée à l'Hôpital Ibn Tofail de Marrakech entre 2011-2015 qui a montré une prédominance d'isolement des EPC a partir des urines (36%) et les pus (23%) (**S.Tidrarine 2019**).

- L'étude effectuée par Helene Cormier au CHU Angers entre 2013-2017 qui a montré que les EPC sont isolées principalement à partir des hémocultures (32,3%) suivi par les PDP (17%) (**Cormier.H et al 2017**).

La *K.pneumoniae* est l'espèce la plus fréquemment productrice de carbapénèmases avec un taux de **87.23%**. Cette fréquence a été également rapportée dans certains pays comme en France (59 %) (**S.Figueiredo et P-E Leblanc 2016**). Ainsi selon les données du réseau EARS-Net cette proportion pour *K. pneumoniae* était en forte augmentation en Grèce (59 %) et en Italie (34 %) où ces souches sont devenues endémiques et responsables fréquemment d'infections invasives.

Il est important de noter que l'évolution de la résistance peut être très rapide, comme en témoigne l'augmentation de la résistance aux carbapénèmes chez *K. pneumoniae* en Italie, qui a passée de 1 % en 2009 à 27 % en 2011 (**EARS-Net 2011**). A savoir, que le taux des EPC dans notre étude est passé de **0,9%** en 2016 à **22,79%** en 2019.

La détermination du type de carbapénémase dans notre étude a été effectuée par le test de disque combiné à l'EDTA qui a montré que 38 souches sur 47 sont productrices de carbapénémase de la classe B d'Ambler (Métallo-B-Lactamase). A savoir que l'OXA-48 est la carbapénémase la plus fréquente dans les hôpitaux algériens selon l'étude réalisée par N. Aggoune et al où sur les 40 EPC inclus, 35 étaient des EPC productrices d'OXA-48 (**N. Aggoune et al 2015**).

Pour ce qui est de l'ERG d'après notre étude, parmi les cinq souches de l'ERG identifiées de 2016 à 2019, 4 souches étaient d'*E.faecium*, Ainsi que l'étude de Hamidi et al a démontré que l'*Enterococcus faecium* est l'espèce la plus concernée par la résistance aux glycopeptides (**M.Hamidi et al 2013**). Une autre étude faite à l'institut Pasteur d'Algérie entre janvier 2005 et décembre 2014, a démontré une prédominance de l'*E.faecium* (**S.Bouheraoua et al 2015**).

La prédominance d'*E.faecium* a été également rapportée dans certains pays comme la France et en Europe (**M.Subiros et al 2016**).

La majorité des ERG isolées dans notre étude provenait d'hémoculture (3/5), ceci concorde avec les données des centres hospitaliers aux Etats Unis, où certains auteurs ont isolé d'hémocultures plus de 70% d'Entérocoques résistants à la vancomycine parmi les Entérocoques (**A.Karlowsky et al 2004**). Ceci peut être expliqué par le fait que les Entérocoques sont des bactéries opportunistes, pouvant entraîner des infections invasives à la faveur d'une diminution des moyens de défense chez l'hôte (**F.Denis et al 2016**).

Les bactériémies à Entérocoques résistants à la vancomycine sont associées à un surcroît de mortalité, de récurrences par rapport aux bactériémies à Entérocoques sensibles à la vancomycine (VSE). Elles représentent donc un problème de santé publique majeur dont le monde médical doit se préoccuper. De plus, une crainte justifiée est de voir ces VRE transmettre leur résistance au MRSA qui deviendrait alors un VRSA (vancomycin resistant *S. aureus*), avec les implications que l'on peut imaginer (**K.Stucki et al 2014**). En Algérie selon l'AARN aucun cas de VRSA n'a été détecté (**AARN 2017**).

Concernant le profil de résistance des souches de l'ERG, le résultat d'antibiogramme indique que les isolats, étaient 100% résistants à la vancomycine, 3 souches résistantes à la teicoplanine. On note un taux de résistance élevé vis-à-vis de la rifampicine, l'ampicilline et la ciprofloxacine.

Durant la période de l'étude, les BMR et les BHRe ont touché les différents sites infectieux, ont été isolées principalement à partir des PDP, des hémocultures, des suppurations, ainsi que les cathéters veineux. En effet, les services de réanimation regroupent tous les facteurs de risque nécessaires à l'émergence de la résistance aux antibiotiques et à la dissémination des bactéries multiresistantes, notamment, le long séjour, l'utilisation des antibiotiques à large spectre, les procédures invasives, le terrain des patients admis en termes d'immunodépression et des pathologies lourdes.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les services de réanimation « épice de la résistance aux antibiotiques », sont le lieu où les infections à bactéries multirésistantes sont les plus fréquentes.

Les capacités de diffusion et d'adaptation à l'environnement des BMR obligent les cliniciens à une prescription d'antibiotiques raisonnée et argumentée, notamment grâce à un antibiogramme. Ainsi, 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.

Dans le but d'avoir l'état des lieux au niveau de l'unité de réanimation nous avons réalisé une étude portant sur l'ensemble des BMR et des BHRe isolées à partir des différents prélèvements issus de patients hospitalisés dans l'unité de réanimation polyvalente du service des urgences médico-chirurgicales du CHU Blida.

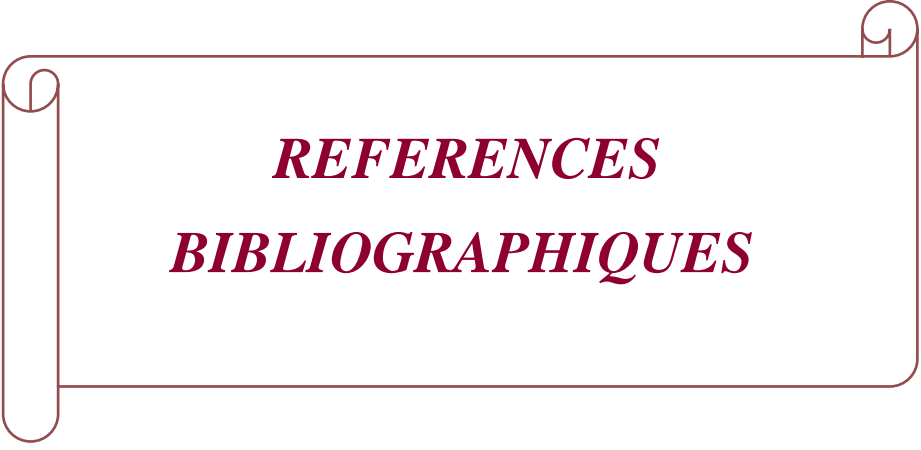
Ce travail rapporte que :

- L'installation des BMR /BHRe en réanimation s'est faite dès la première année qui a suivi l'inauguration de l'unité, ces germes ont continué à sévir les années d'après.
- Un taux important de BMR /BHRe isolées au sein de l'unité de réanimation.
- Une large diffusion des Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération et d'*A.baumannii* multi-résistant et leur grande implication dans les différentes pathologies.

L'isolement des BMR / BHRe représente une réelle menace dans les établissements de santé en particulier au niveau des services de réanimation à cause de la difficulté d'éradication de ces bactéries une fois disséminées.

La lutte contre ces bactéries multirésistantes peut se faire par la prévention qui consiste entre autre, à comprendre leurs modes de transmission, à trouver les déterminants de la résistance, et par la suite développer et mettre en place des outils de détection et de surveillance en temps réel

Il est nécessaire et urgent de prendre des mesures préventives et organisationnelles en priorité une surveillance stricte et continue, une vigilance des différents intervenants, un respect des règles de prescription des antibiotiques, et un renforcement des mesures d'hygiène.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

LES ARTICLES

-A-

- **Abbas.M, Cherkaoui.A, Fankhauser.C, Schrenzel.J, Harbarth.S** ; Carbapénèmases : implications cliniques et épidémiologiques pour la Suisse. Revue médicale suisse, avril 2012, 8, P : 882-889.
- **Abbas.H-A, El-Ganiny.A-M, Kamel.H-A** ; Phenotypic and genotypic detection of antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections, Afr Health Sci. Mar 2018, 18(1), P : 11-21.
- **AboyaMoroh.J-L** ; Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de Morindamorindoides, 2013, 2013. French. <NNT : 2013BRES0028>. <tel-00935393>.
- **Abalo.A, Walla.A, Ayouba.G, Ndjiam.M, Agouké.W, Dossim.A** ; Infection du site opératoire en chirurgie orthopédique dans un pays en voie de développement 2010, 96, P : 112-117.
- **Agata.E MD, Gautam.S, Green.WK, Tang.YW** ; High rate of false-negative results of the rectal swab culture method in detection of gastrointestinal colonization with vancomycin-resistant enterococci, Clinical Infectious Diseases 2002, 34, P:167-172.
- **Aggoune.N** ; Premier cas d'Enterococcus faecalis résistant à la vancomycine en Algérie, Médecine et maladies infectieuses 2008, 38, P : 557-558.
- **Aguirre-Quinonero.A, Martínez-Martínez.L** ; Non-molecular detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae clinical isolates. Journal of Infection and Chemotherapy, 2017, 23, P : 1-11.
- **Alessandra.O, Alessia.C, Vincenzo.V, Mario.V, Claudio.M, Marco.F** ; Clinical and in vitro efficacy of colistin plus vancomycin and rifampin against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* causing ventilator-associated pneumonia, New Microbiol. Jul 2017, 40(3), P : 205-207.
- **Alfandari.A** ; Prévention des infections urinaires nosocomiales : effets de l'infection urinaire nosocomiale sur la durée de séjour, le coût et la mortalité, Médecine et maladies infectieuses 2003, 33, P : 247-254.
- **Aloush.V** ; Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Risk factor and clinical impact, Antimicrob Agents chemother N°50(1), 2006, P: 43.
- **Altamimi.M, AlSalamah.A, Alkhulaifi.M, AlAljan.H** ; Comparison of phenotypic and PCR methods for detection of carbapenemases production by Enterobacteriaceae. Saudi Journal of Biological Sciences, 2017, 24, P : 155-161.
- **Al Rached.N, Joji.R-M, Saeed.N-K, Bindayna.K-M** ; Detection of overexpression of pump expression in fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolats, PubMed 2020, 10(1), P : 37-42.
- **Amhal.Z** ; Profil épidémiologique actuel des bactéries multirésistantes, Expérience de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech, Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine, N°77, 2017.

- **Arshad.F, Javed.I, Mushtaq.S, Anwer.S** ; Detection of MecA mediated methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* by cefoxitin disc diffusion method and latex agglutination test, *P J M H N*°1,2016, 20, P : 106.
- **Auboyer.C** ; Infections urinaires en réanimation : diagnostic et traitement, *Méd Mal Infect* N:33, 2003, P:474-482.

-B-

- **Baba Ahmed-Kazi Tani.Z, Arlet.G** ; Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie, *Pathologie Biologie*, N°62, 2014, P : 169-178.
- **Bajpai.V, Govindaswamy.A, Khurana.S, Batra.P, Aravinda.A, Katoch.O, Hasan.F, Malhotra.R, Mathur.P** ; Phenotypic and genotypic profile of antimicrobial resistance in *Pseudomonas* species in hospitalized patients, *Indian J Med Res.* 2019 149(2), P : 216-221.
- **Barbier.F et Wolff.M** ; Multirésistant chez *Pseudomonas aeruginosa* vers l'impasse thérapeutique ?, *Med Sci, Paris* 2010, 26, P : 960-968.
- **Baux-Pomarès.E** ; Traitement des infections à Entérobactéries sécrétrices de BLSE : alternatives aux carbapénèmes, Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine, Université Lorraine 2015, P : 26-28
- **Bassetti.M, Peghin.M, Pecori.D** ; The management of multidrug-resistant Enterobacteriaceae, *Curr Opin Infect Dis* 2016, 29, P : 583-594.
- **Benabbou.T-A** ; Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens, Université d'oran, 04/08/2012, P : 16.
- **Bergogne- Bérézin.E, Towner.K-J** ; *Acinetobacter* spp as nosocomial pathogens : microbiological, clinical, and epidemiological features, *Clin. Microbiol.Rev* Apr1996, 9(2), P : 148-165.
- **Bernabou.S, Poirel.L, Nordmann.P** ; Pectrophotometry-based detection of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae. *Diagan Microbiol Infect Dis*, 2012, 74, P : 88-90.
- **Billy.C** ; Détection génotypique des résistances bactériennes : de la phénotypie à la génotypie, deux méthodes complémentaires, *Réanimation*, N°12, 2003, P : 192-197.
- **Binda.E, Marinelli.F, Marcone.G** ; Old and new glycopeptide antibiotics : action and resistance, *Antibiotics* 2014, 3, P : 572-594.
- **Biovin.S, Caux.C, Soucy.C, et Allard.A** ; Les Entérobactéries productrices de carbapénémases. Prévention des infections s'unir pour prévenir, *Perspective infirmière* 2016, 13, P : 53-56.
- **Birganda.G, Lucet.J-C** ; Politique de dépistage des BMR : quand et qui faut-il dépister ?, *Revue francophone des laboratoires*, N°453, juin 2013, P : 32.
- **Birgy.A, Bidet.P, Genel.N, Doit.C, Decré.D, Arlet.G, Bingen.E** ; Phenotypic screening of carbapenemases and associated β -lactamases in carbapenem resistant Enterobacteriaceae. *Journal of clinical microbiology*, 2012, 50, P : 1295-1302.

- **Biswal.I, Arora.B-S, Kasana.D, Neetushree** ; Incidence of Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Burn Patients and Environment of Teaching Institution, *Journal of Clinical and Diagnostic Research* May2018, 8(5), P : 26-29.
 - **Boisson.M, Mimoz.O** ; Les nouveaux antibiotiques : qu'apportent-ils aux cliniciens?, *Le Praticien en anesthésie réanimation*, Volume 22, Issue 5, October 2018, P 289-295.
 - **Boral.B, Unaldi.Ö, Ergin.A, Durmaz.R, Eser.ÖK** ; A prospective multicenter study on the evaluation of antimicrobial resistance and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in intensive, *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* 2019, 18(1), Article number : 19.
 - **Bourdon.N, Fines-Guyon.M, Thiolet.J-M, Maugat.S, Coignard.B, Leclercq.R** ; Changing trends in vancomycin-resistant Enterococci in French hospitals. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2011, 66, P : 713-721.
 - **Boutet-dubios.A, Pantel.A, Sotto.A, Lavigne.J-P** ; Entérobactéries productrices de carbapénèmes, lettre d'information du CCLinSud-Est, destinée aux acteurs de la lutte contre Les Infections Nosocomiales & Associées aux soins, Avril 2012, 2, P : 144-153.
 - **Bouvet.P-J, Grimont.P-A** ; taxonomy of the genus *Acinetobacter*, *Int J Syst Bacteriol* 1986, 36, P : 228-240.
 - **Bréchet.C, Plantin.J, Sauget.M, Thouverez.M, Talon.D, Cholley.P** ; Wasterwater treatment plants release large amounts of extended spectrum bêta-lactamase producing *Escherichia coli* into the environment, *Clin Inf Dis*, N°58, 2014, P : 1658-1665.
 - **Brun-Buisson.C** ; Risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation, *Réanimation* 2005, volume 14, issue 6, P463-471.
 - **Brun-Buisson.C** ; Le dépistage des porteurs de bactéries multirésistantes : chez quels patients ?, *Réanimation*, Volume 24, Supplement 2, janvier 2015, P : 304–314.
- C-
- **Carle.S** ; **La résistance aux antibiotiques** : Un enjeu de santé publique important !, *Pharmactuel*, Vol 42 Supplément 2, Décembre 2009, P : 17.
 - **Cattoir.V** ; Les nouvelles bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), *MAPAR Pathologie infectieuse en réanimation*, 2008, P : 204-208.
 - **Cattoir.V, Daurel.C** ; Quelles nouveautés en antibiothérapie ? *Med Mal Infect* 2010, 40, P : 135-154.
 - **Cattoir.V, Leclercq.R** ; Les Entérocoques résistants aux glycopeptides. *Medecine Sciences*, Novembre 2010, 26, P : 936-937.
 - **Cattoir.V** ; **Quinolones** : de l'antibiogramme aux phenotypes de résistance, *Revue Francophone des Laboratoires* 2012, vol : 447, P : 79-87.
 - **Cattoir.V** ; Traitement des infections dues à Entérobactéries productrices de carbapénèmes. *Journal des Anti-infectieux* 2014, 16, p : 99-105.
 - **Cantón.R, Coque.T-M** ; The CTX-M β -lactamase pandemic, *Current opinion in microbiology*, N°9 (5), 2006, P : 466-475.
 - **Carlet.J, Benali.A** ; Existe-t-il une alternative aux glycopeptides pour le traitement des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la mêticilline ? *Réanimation* N° 15? 2006, P: 176–179.

- **Cazanave.C** ; Bactériémie à Entérobactéries productrices de BLSE : Actualités service des maladies infectieuses et tropicales, INRA, 2015.
- **Caverivier.V** ; BMR et BHRé, UMA hygiène hospitalière, octobre 2016.
- **Chadli.M, Rtabi.N, Alkandry.S, Koek.J-L, Achour.A, Buisson.Y, Baaj A.** ; Incidence des infections du site opératoire, Méd Mal Infect 2005, 35, P : 218–222.
- **Charles.P-E, Dargent.A, Andreu.P** ; Nouvelles molécules anti-infectieuses. Quelle place en médecine intensive réanimation pour le tédizolide, la ceftaroline et le ceftobiprole ?, Méd. Intensive Réa 2017, 26, P : 207-217.
- **Chastre.J, Fagon.J-Y** ; Ventilator-associated pneumonia, Am J RespirCrit Care Med 2002, 165, P : 867-903.
- **Choquet.M** ; Mise en place d'un algorithme décisionnel pour la détection des Entérobactéries productrices de carbapénèmase (EPC) au laboratoire de bactériologie du CHU Amiens Picardie de bactériologie du CHU Amiens Picardie, Sciences pharmaceutiques, < dumas-01496957>, 2016.
- **Cormier.H, Chenouard.R, Legeay.C** ; L'infection à Entérobactéries productrices de carbapénèmase, un évènement peu fréquent, un évènement grave, CHU Angers 2017.
- **Courvalin.P** ; Genetics of glycopeptide resistance in Gram-positive pathogens, International Journal of Medical Microbiology, 2005, 294, P : 481-482.
- **Courvalin.P** ; Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. Clinical Infectious Diseases 2006, 42, P : 26-30.
- **Courvalin.P** ; Glycopeptide and enterococci, éditionAntibiogram Paris ESKA, 2009, P : 285-94.

-D-

- **Damier-Piolle.L, Magnet.S, Brémont.S, Lambert.T, Courvalin.P** ; A resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrobial agents and chemotherapy, Feb 2008, P : 557–562.
- **Daiki. M, Sellami. W, Samoud. W, Hajjej. Z, Labbene. I, Naija. H, Ferjani. M** ; Infections endovasculaires, Réanimation 2013, 23, P : 289-292.
- **David.M, Lemeland.JF, Boyer.S** ; Émergence de bêta-lactamases à spectre étendu chez *Pseudomonas aeruginosa* : à propos de 24 cas au CHU de Rouen. Pathologie Biologie, 2008. 56(7-8), P : 429-434.
- **Daurel.C** ; faut-il abandonner la vancomycine ?, Archives de Pédiatrie, Volume 17, Supplement 4, Septembre 2010, 17, P : 121-128.
- **Daurel.C, Leclercq.R** ; L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*, Revue francophone des laboratoires, Volume 2008, Issue 407, December 2008, Pages 81-90.
- **De-Geyter.D, Blommaert.L, Verbraeken.N, Sevenois.M, Huyghens.L, Martini.H, Covens.L, Piérard.D, Wybo.I** ; The sink as a potential source of transmission of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the intensive care unit, Antimicrobial resistance and infection control, 6, 2017.
- **Depardieu.F, Kolbert.M, Pruul.H, Bell.J, Courvalin.P** ; VanD-Type Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. American Society for Microbiology, Mai 2004, 48, P : 3889-3892.

- **Depardieu.F, Courvalin.P, Kolb.A** ; Binding sites of VanRB and σ 70 RNA polymerase in the vanB vancomycine resistace operon of Enterococcus faecium BM4524, Juillet 2005, 57, P : 550-564.
- **Debeaupuis.J et Vallet.B** ; Recommandations pour la prévention de la transmission croisée des (BHRe), juillet 2013, P : 22.
- **Decré.D** ; Acinetobacter baumannii et résistances aux antibiotiques : un modèle d'adaptation, Revue francophone des laboratoires 2012, 441, P : 43-52.
- **Dekeyser.S, Beclin.E, Descamps.D** ; Intérêt de la mise en place de de la recherche des gènes van A et van B par technique PCR en système clos dans un laboratoire de microbiologie dans le cadre de la gestion d'une épidémie à Enterococcus faecium résistant aux glycopeptides (EfRG). Pathologie Biologie 2011, 59 : P : 73-78.
- **Delacour.H, Plésiat.P, Cavaloo.J-D, Jeannot K** ; Pseudomonas aeruginosa and antibiotic resistance, 2011, Revue francophone des laboratoires, Vol 41, N° 435, P : 49-62.
- **Delmas.J, Robin.F, Romaszko.J-P, Baradue.R, Lesns.O, Sirot.J, Bonnet.R** ; Utilisation de la gélose VCA3 (bioMérieux) pour l'isolement sélectif de l'Entérocoque résistant à la vancomycine à partir de prélèvements fécaux. Pathologie Biologie 2005, 53, P : 486.
- **Derek.F, Brown.J** ; Detection of methicillin/oxacillin resistance in staphylococci, Journal of antimicrobial chemotherapy, N°48, suppl.S1, 2001, P : 65-70.
- **Deresinski.S** ; The multiple paths to heteroresistance and intermediate resistance to vancomycin in Staphylococcus aureus, J Infect Dis, N°208, 2013, P : 7-9.
- **Derkaoui.M** ; Détection et caractérisation de la résistance aux antibiotiques dans un effluent hospitalier, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediène, 2011.
- **Descy.J, Meex.C, Melin.P, Hayette.MP, Huynen.P, De Mol.P** ; MALDI-TOF mass spectrometry in clinical bacteriology or how to identify a bacteria within one minute, Rev Médicale Liège, N°65, 2010, P: 29-34.
- **Deyyab.Y** ; Détection des bactéries multirésistantes au laboratoire de bactériologie du CHU de Limoges, Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur d'état en pharmacie, 2012, P : 66.
- **Didouh.M, Cheikh.A, Wadie-Zerhouni.M, Attjioui.H, Bouatiad.M** ; Les déterminants de la prescription des antibiotiques à l'hôpital, Revue d'épidémiologie et de santé publique, Volume 66, Supplement 3, May 2018, P : 153.
- **Doit.C** ; Bactéries hautement résistantes émergentes en pédiatrie, Réanimation 2015, 10, P : 1-6.
- **Dortet. L, Poirel. L, Nordmann. P** ; Epidémiologie, Détection et Idencatification des Entérobactéries productrices de carbapénèmases. Bactériologies Carbapénèmases, mai 2013, 312, P : 1-12.
- **Dortet.L, Cuzon.G, et Nordmann.P** ; Note technique : Détection des souches d'Entérobactéries productrices d'une carbapénémase, CNR, Janvier 2014, P : 1-12.
- **Dortet.L, Cuzon.G, et Naas.T** ; Note technique : Détection des souches d'Entérobactéries productrices d'une carbapénémase, CNR, mai 2016, 5, P : 1-19.

- **Dortet.L, Bonnin.R, Jousset.A, Gauthier.L, Naas.T** ; Emergence de la résistance de à la colistine chez les Entérobactéries : Une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance ! Journal des Anti-infectieux, 2016, 18, P : 139-159.
- **Durand.A, Dupré .C, Robriquet.L** ; Faut-il isoler les patients porteurs de BMR ? Should Contact Precautions for Multidrug Resistant Organism Transmission Be Used?, Réanimation, 2016, 25(3), P : 318–327.
- **Duroch.A** ; Place de la PCR-hybridation dans le diagnostic de deux bactéries
- Multirésistantes les ERG et les SARM LPV, Université Henri Poincaré–Nancy, 2009.
- **Dumitrescu.O** ; Detection de la résistance aux glycopeptides de *Staphylococcus aureus*, Pertinence clinique et microbiologique, Sympostaph-Lyon, 2016.

-E-

- **Eddayab.Y** ; Détection des bactéries multirésistantes au laboratoire de bactériologie du CHU Limoges, 2008.
- **Edwards-Jones.V, Claydon.M-A, Evason.D-J, Walker.J, Fox.A-J, Gordon.D-B** ; Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by intact cell mass spectrometry, J Med Microbiol, N° 49, 2000, P:295-300.
- **El Ghazouani.G** : les infections à germes multiresistants en réanimation ,pour l'obtention du doctorat en medecine, universite cadi ayyad ;marrakech,2010.
- **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 N°39, 2009, P: 891–895.
- **Elhani.D** ; Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît, Ann Biol Clin 2012, 70(2), P : 117-140.
- **Elouennas M et al** ; Epidemiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002-2005), Médecine et maladies infectieuses, Vol 38, N°1, Med Mal Infect, 2008, P: 18-24.
- **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 Infet N:33, 2003, P:361–364.
- **Émile.C** ; Modalités de détection des BLSE chez les entérobactéries, Option Bio, Vol 19, N° 396, 2008, P : 18.
- **Émile.C** ; Modalités de détection des BLSE chez les Entérobactéries, Option Bio, Vol 19, N° 396, Doi : OPTBIO-03-2008-9-396-0992-5945-101019-200806103, 2008, P: 18.
- **ER-Rahmany.M, Boighalem.M** ; Les infections liées aux cathéters veineux centraux en reanimation, Service de réanimation, hopital militaire Avicenne 2010, P : 1-4.
- **Eveillard.M** ; Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission, 2007. (Thèse de doctorat, Université d'Angers).

-F-

- **Falagas.M-E, Koletsis.P-K, Bliziotis.I-A** ; La diversité des définitions des multirésistante (mdr) et pandrug résistant (pdr) *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas*. J med microbiol. 2006, 55, P : 1619-1629.
- **Falagas.M-E, Rafailidis.P-I, Ioannidou.E** ; Colitin therapy for microbiologically documented multidrug-resistant Gram negative bacterial infections : A retrospective cohort study of 258 patients, Inf J Antimicrob Agents 2010, 35, P : 194-199.
- **Fenselau.C, Demirev.P-A** ; Characterization of intact microorganisms by MALDI mass spectrometry, Mass Spectrom Rev, N°20, 2001, P : 157–171.
- **Fernandez-Gerking.M-P, Mainardi.J-L** ; Nouvelles associations dans le traitement des infections graves à cocci à Gram positif, Journal des Anti-infectieux 2014, 16, P : 18-21.
- **Fines.M, Bourdon.N, Leclercq.R** ; Epidémies à Entérocoques résistants aux glycopeptides en France : rôle du laboratoire, Revue Francophone des Laboratoires 2007, 396, P : 33-39.
- **Florescu.D-F, Qiu.F, McCartan.M-A, Mindru.C, Fey.P-D, Kalil.A-C** ; What is the efficacy and safety of colistin for the treatment of ventilator-associated pneumonia ? A systematic review and meta-regression. Clin Infect Dis 2012, 54, P : 670-680.
- **Fluit.A-C, Visser.M-R, Schmitz.F-J** ; Molecular detection of antimicrobial resistance, Clin Microbiol Rev, N°14(4), P : 836-871.
- **Forestiera.E, Rémya.V, Mohseni-Zadeha.M, Lesensb.O, Jauhlacc.B, Christmanna.D, Hansmanna.Y** ; Bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : aspects épidémiologiques et thérapeutiques récents. La Revue de médecine interne, N°28, 2007, P:746–755.

-G-

- **Galiana.A, Coy.J, Gimeno.A, Guzman.N-M, Rosales.F, Merino.E, Royo.G, Rodríguez.J-C** ; Evaluation of the Sepsis Flow Chip assay for the diagnosis of blood infections, SFC assay for the diagnosis of blood infections, Plos one, May 18, 2017.
- **Gangoue-Pieboji.J** ; Caractérisation des bêta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse, Université de Liège, Novembre 2007.
- **Garnier.F, Chainier.D, Walsh.T, Karlsson.A, Blomstrom.A, Grelaud.C** ; A one year surveillance study of glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* strains in French hospital. J Antimicrob Chemother, N°5(1), 2006, P : 146-149.
- **Gautier.V** ; Caractérisation et expression des gènes codant pour les bêta-lactamases chromosomiques au sein des Entérobactéries de l'environnement, Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique Hautes, Université P et M.Curie Paris, 2007.
- **Gassera.M, Schrenzelb.J** ; Evolution actuelle des résistances aux antibiotiques en Suisse. Forum médical Suisse 2018, 18(46), P : 943–949.
- **Gbian.D-L et Omri.A** ; Évaluation de l'activité antimicrobienne du Phénylalanine-arginine β -naphthylamide en combinaison avec des aminoglycosides et des macrolides

sur des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées de patients atteints de la Fibrose kystique, Actes de la journée des sciences et saviors 2019, P:41-55.

- **German.G-J, Jamieson.F-B, Gilmour.M, Almohri.H, Bullard.J, Domingo.M-C, Fuller.J, Girouard.G, Haldane.D, Hoang.L, Levett.P-N, Longtin.J, Melano.R, Needle.R, Patel.S-N, Rebbapragada.A, Reyes.R-C, Mulvey.M-R** ; Recommandations provisoires concernant la déclaration des isolats ultrarésistants et panrésistants de la famille des Enterobacteriaceae, de *Pseudomonas aeruginosa*, du genre *Acinetobacter* spp. et de *Stenotrophomonas maltophilia*, RMTTC, 2016, 42(4), P : 103-110.
- **German.G-J, Gilmour.M, Tipples.G, Adam.H-J, Almohri.H, Bullard.J, Dingle.T, Farrell.D, Girouard.G, Haldane.D, Hoang.L, Levett.P-N, Melano.R, Minion.J, Needle.R, Patel.S-N, Rennie.R, Reyes.R-C, Longtin.J, Mulvey.M-R** ; Énoncé canadien définissant la multi-résistance et l'ultra-résistance chez les souches d'Entérobactéries, d'*Acinetobacter* spp et de *Pseudomonas aeruginosa* pour les laboratoires médicaux. Relevé des maladies transmissibles au Canada 2018, 44 (1), P : 32-37.
- **Ghaith.D-M, Mohamed.Z-K, Farahat.M-G et al.** ; Colonization of intestinal microbiota with carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in paediatric intensive care units in Cairo, Egypt, Arab Journal of Gastroenterology, Volume 20, Issue 1, March 2019, Pages 19-22.
- **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 bêtalactamases de l'antibiogramme à la biologie moléculaire,2011 ; Société Algérienne de Microbiologie.
- **Giamarellou.H, Antoniadou.A** ; *Acinetobacter baumannii* : universal threat to public health ? Int.Journal, Agents 2008, 32(2), P : 106-119.
- **Girlich.D, Poirel.L, Nordmann.P** ; Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae, J Clin Microbiol 2012, 50, P : 477-479.
- **Gniadek.T-J, Carroll.K-C, Simner.P-J** ; Carbapenem-resistant nonglucose-fermenting Gram-negative bacilli : the missingpiece to the puzzle, J Clin Microbiol 2016, 54, P : 1700–1710.
- **Gomart.C, Fourreau.F, Cizeau.F, Ducellier.D, DartyM-M, Decousser.J-W** ; Prévention des infections associées aux soins et hygiène hospitalière, Revuefrancophone des laboratoires 2019, N° 516, P : 55-64.
- **Godreuil.S, Marchandin.H, Boulier.A, Boumzebr.A, Campos.J, Jean-Pierre.H** ; Dépistage des Entérocoques résistants aux glycopeptides : six ans d'étude dans trois services de réanimation au CHU de montpellier, Pathologie Biologie Octobre 2007, 55, P : 418-423.
- **Grace.D, Fetsch.A** ; *Staphylococcus aureus* a food borne pathogen : Epidemiology, Detection, Characterization, Prevention, and Control, An Overview in *Staphylococcus aureus*, Elsevier, 2018, P : 3–10.

- **Grall.N, Andermont.A, Armand-Lefèvre.L** ; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) : Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, CLSI twentieth informational supplement 2010, P : 100-20.
- **Grall.N, Andreumont.A, Armand-Lefèvre.L** ; Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? , Journal des Anti-infectieux, 2011, 13, P : 87-102.
- **Grare.M** ; Des ERG et des Hommes et le Bactériologiste dans tout ça ? , université Henri Poincaré Nancy 2008, HAL Id : hal-01738787 , <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01738787>.
- **Guardabassi.L, Courvalin.P** ; Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance, Washington, 2006, P : 1-18.

-H-

- **Hackel.M-A, Tsuji.M, Yamano.Y, Echols.R, Karlowsky.J-A, Sahm.D-F** ; In vitro activity of the Siderophore Cephalosporin, Cefiderocol, against Carbapenem-Nonsusceptible and multidrug-resistant isolates of Gram-negative bacilli collected worldwide in 2014 to 2016, Antimicrob Agents Chemother, N°62(2), Print 2018.
- **Harada.S, Ishii.Y, Yamaguchi.K** ; **Extended-spectrum β -Lactamases** : Implications for the Clinical Laboratory and Therapy, Korean J Lab Med 2008, 28, P : 401-412.
- **Haifei.Y, Guosheng.C, Lifen.H, Yanyan.L, Jun.C, Hongru.L, Ying.Y, Jiabin.L** ; In vivo activity of daptomycin/colistin combination therapy in a *Galleria mellonella* model of *Acinetobacter baumannii* infection, Int J Antimicrob Agents Feb 2015 45(2):188-191.
- **Hamidi.M, Ammari.H, Ghaffor.M, Benamrouche.N, Tali-Maamar.H, Talakhir.F, Younsi.M, Rahal.K** ; Emergence d'Enterococcus faecium résistant aux glycopeptides en Algérie : A propos d'un cas. Annales des biologies cliniques, 2013, 49, P : 104-106.
- **Hidri.N, Lanande.V, Kreuter.M** ; Un phénomène naturel, la résistance bactérienne aux antibiotiques, Le généraliste, Vol n°2086, 23/01/2001.
- **Horan.T-C, Gaynes.R-P, Martowe W-J, Culver DH, Jarvis WR, Edward JR, Reid CR** ; CDC definitions for nosocomial surgical sites infections : A modification of CDC definitions of surgical wound infections. Infect control hosp epidemiol, 1992, 13(10), P : 606-608.
- **Hoyos-Mallecot.Y, Naas.T, Bonnin.RA, Patino.R, Glaser.P, Fortineau.N, Dortet.L** ; OXA-244-Producing *Escherichia coli* Isolates, a Challenge for Clinical Microbiology Laboratories. Antimicrob Agents Chemother 2017, 61.
- **Howden.B-P** ; Recognition and management of infections caused by vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogenous VISA (hVISA), Intern Med J, N°35, 2005, P : 136-140.
- **Howden.B-P, Davies.J-K, Johnson.P-D-R, Stinear.T-P, Grayson.M-L** ; Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains : resistance mechanisms, laboratory detection and clinical implications, Clin microbiol rev, N°23(1), 2010, P : 399-403.

-J-

- **Janvier.F, Mérens.A, Delaune.D, Soler.C, Cavallo.J-D** ; Portage digestif d'Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération dans une population d'adultes jeunes asymptomatiques : Evolution entre 1999 et 2009, Pathologie Biologie, Volume 59, N°2, Avril 2011, P : 97-101.
- **Jeannot.K, Plésiat.P** ; Épidémiologie de la résistance aux β -lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa*, Journal des Anti-infectieux 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antinf.2015.11.001/>
- **Jehl.C, Vogel.T, Lavingne.T, Hitti.A, Berthel.M, Kaltenbach.G** ; Suivi prospectif de patients excréteurs d'Entérocoques résistants aux glycopeptides en unité de soins de longue durée et efficacité des mesures de précaution « contact », Presse Med 2011, 40, P : 320-326.
- **Joffrey.A** ; Antibiotiques : La résistance aux nouvelles thérapeutiques, Thèse d'exercice en pharmacie, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2017.
- **Joly-Guillou.M-L** ; Le point sur les staphylocoques dorés de moindre sensibilité aux glycopeptides en réanimation, Réanimation, N°13, 2004, P : 185–189.

-K-

- **Kampoj.M, Cohen.M, Gilhuley.K** ; Emergence of daptomycin-resistant VRE : experience of a single institution. Infect Control Hosp Epidemiol 2011, 32, P : 391-394
- **Karaiskos.I, Souli.M, Galani.I, Giamarellou. H** ; Colistin : still a lifesaver for the 21st century?, Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology Jan 2017, 13(1), P : 59-71.
- **Karlowsky.J- A, Jones.M-E, Draghi.D-C, Thornsberry.C, Sahm.D-F, Volturo.G-A** ; Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. Annals of clinical microbiology and antimicrobials 2004; 3(7).
- **Kenneth.S, Thomson.Ph-D, S.Moland** ; B.S.M.T : Comparison of Phoenix and Vitek 2 ESBL : Confirmatory Tests Against *E. coli* and *Klebsiella* Isolates with Well-characterized β -lactamase, ASM, Orlando, FS 2006.
- **Kolar.M, Htoutou-Sedlakova.M, Pudova.V, Roderova.M, Novosad.J, Senkyrikova.M, Szotkowska.R, Indrak.K** ; Incidence of fecal Enterobacteriaceae producing broad-spectrum beta-lactamases in patients with hematological malignancies, Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, N°159(1), 2015, P: 100-103.

-L-

- **Leone.M, Ayem.M-L, Martin.C** ; Les glycopeptides, Réanimation 2000, 16, P : 177-187.
- **Lee A-S, Huttner.B, Harbarth.S** ; Control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Infectious Disease Clinics of North America, Vol 25, N°1, 2011, P: 155–179

- **Lepelletier.D, Batard.E, Berthelot.P et al** ; Carbapenemase producing enterobacteriae : epidemiology, strategies to control their spread and issues, Rev Med Interne, 2015,36(7), P : 474.
- **Lepelletier.D, Batard.E, Berthelot.P, Zahar.J-R, Lucet.J-C, Fournier.S, Jarlier.V, Grandbastien.B** ; Maîtrise de la diffusion des Entérobactéries productrices de carbapénémases : Epidémiologie, Stratégies de prévention et enjeu, La revue de médecine interne, Volume 36, Issue 07, juillet 2015, P: 474-479.
- **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 N°25, 2006, P: 626–632.
- **Levy Hara.G, Gould.I, Endimiani.A, Pardo.P-R, Daikos.G, Hsueh.P-R et al** ; Detection, treatment, and prevention of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae : recommendations from an International Working Group, J Chemother 2013, 25, P : 129-140.
- **Lister.P-D, Wolter.D-J, Hanson.N-D** ; Antibacterial-resistance *Pseudomonas aeruginosa* : Clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms, Clin Microbiol Rev 2009, 22, P : 585-610.
- **Liñares.J** ; The VISA/GISA problem : therapeutic implications, Clin microbiol infect, N°7 Suppl 4, 2001, P : 8-15.
- **Loeiz.C** ; Les deux derniers nouveaux antibiotiques anti-BGN : Ceftolozane-Tazobactam et Ceftazidime-Avibactame, XXIVème JRPI journée régionale de pathologie infectieuse, 2017.
- **Loulergue.P, Tourret.S** ; Le staphylocoque doré résistant à la méticilline d'origine communautaire, DES de bactériologie, virologie et hygiène hospitalière, semestre été 2003, P : 13.
- **Lozniewski.A, Rabaud.C** ; Résistance bactérienne aux antibiotiques, CCLIN sud-est. Nancy, 2010.
- **Lubega.A, Joel.B, Lucy.NJ** ; Incidence and Etiology of Surgical Site Infections among Emergency Postoperative Patients in Mbarara Regional Referral Hospital, South Western Uganda. Surgery research and practice, Volume 2017, Article ID 6365172, 2017, P : 1-6.
- **Lucet.J-C** ; Lutte contre les bactéries multi résistantes, La revue du praticien 1998, 48, P : 1541-1546.
- **Lucet.J-C, Bouadma.L** ; Épidémiologie française de l'infection acquise en réanimation ; Réanimation 2015, 24, P : 221-223.
- **Lucet.J-C, Birgand.G** ; Organisation de la prise en charge des patients porteurs de bactéries hautement résistantes émergentes, Journal des anti-infectieux, N°142, 2016, P : 1-5.
- **Lucet J-C** ; Surveillance des infections associées aux soins en réanimation : simplifier pour progresser, Méd. Intensive Réa 2018, 27, P : 193-196.

-M-

- **Maamar.B, Abdelmalek.R, Messadi.A-A, Thabet.L** ; Etude épidémiologique-clinique des infections à Entérobactéries productrices de carbapénémases chez les brûlés, *Annals of Burns and Fire Disasters* 2019, 32(1).
- **MacDougall.C, Polk.R-E** ; Antimicrobial stewardship programs in health care systems, *Clin microbiol Rev* N°18(4), Oct 2005, P : 638-656.
- **Madec.J-Y, Haenni.M, Jouy.E, Granier.S, Weill.F-X, Le Hello.S** ; Les Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de dernières générations : De l'animal à l'homme, *Bulletin épidémiologique, Santé animale et alimentation* N° 53/S spécial antibiotiques et antibiorésistances, 2012, P : 37.
- **Magiorakos A-P, Srinivasan.A, Carey .R-B, Carmeli.Y, Falagas.M-E, Giske.C-G et al** ; Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria : an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance, *ClinMicrobiol Infect*, 2012, 18, P : 268.
- **Maleki.M-H, Jalilian.F-A, Khayat.H, Mohammadi.M, Pourahmad.F, Asadollahi.K, Pakzad.I, Sadeghifard.N, Soroush.S, Emaneini.M, Taherikalani.M** ; Detection of Highly Ciprofloxacin Resistance *Acinetobacter baumannii* Isolated from Patients with Burn Wound Infections in Presence and Absence of Efflux Pump Inhibitor, *Journal of Clinical Medicine, Maedica (Buchar)* 2014 Jun, 9(2), P:162-7.
- **Mallaval.F-O, Carricajo.A, Martin.I, Fonsale.N, Grattard.F, Fascia.P, Aubert.G, Zeni.F, Lucht.F, Pozzetto.B, Berthelot.P** ; Contrôle de phénomènes épidémiques dus à des souches de *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides, *Pathologie Biologie*, N°51, 2003, P : 469-473.
- **Mansion.B** ; Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) : De grandes épidémies vers une gestion en routine 2015, 73. Mémoire du diplôme d'études spécialisées d'innovation pharmaceutique et recherche.
- **Maugat.S, Pontès.V, Colomb Cotinat.M, Soing-Altrach.M, Subiros.M, Bernet.C, Blanchard.H, Simon.L, Venier.A-G, Sénéchal.H, Savitch.Y, Vaux.S, Berger-Carbonne.A, Coignard.A** ; Bilan 2001-2017 des signalements externes d'infections nosocomiales. Part des signalements impliquant une bactérie multirésistante, hautement résistante-émergente ou un *Clostridium difficile*, *Revue de Biologie Médicale* N° 350 SEPTEMBRE-OCTOBRE 2019, P : 73-80.
- **Mérens.A, Delacour.H, Plésiat.P, Cavallo.J-D, Jeannot .K** ; *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques, *Revue francophone des laboratoires*, Vol 411, N°435, septembre-octobre 2011, P : 49-62.
- **Mérens.A, Janviera.F, Vu-Thienb.H, Cavallo.J-D, Jeannotc.K** ; Phénotypes de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Revue Francophone Des Laboratoire*, Septembre-Octobre 2012, N° 445.
- **Merlino.J, Watson.J, Funnel.G** ; New screening medium for detection and identification of methicillin/oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* for nosocomial surveillance, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, N°21(5), 2002, P : 577-584.

- **Merrer.J** ; Épidémiologie des infections liées aux cathéters en réanimation, Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 2005,24, P : 278–281.
- **Merza.H-C** ; Glycopeptide Resistance in *S. aureus*, The rise of virulence and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*, From the edited volume DOI: 10.5772/65471, 2017, P: 43-44.
- **Mesa.R-J, Blanc.V, Blanch.A-R, Cortes.P, Gonzalez.J-J, Lavilla.S, Miro.E, Muniesa.M, Saco.M, Tortola.M-T, Mirelis.B, Coll.P, Ilagostera.M, Prats.G, Navarro.F** ; Extended spectrum beta-lactamases, Enterobacteriaceae in different environments (humans, food, animal farms and sewage), J Antimicrob Chemother, N°58, 2006, P: 211-215.
- **Meunier.O, Exinger.J, Kara.F** ; SARM, ABRI, E.BLSE...ERG et EPC des BMR à l'émergence des BHRé, Centre Hospitalier de HAGUENAU, 2016.
- **Mimoz.O, Rayeh.F, Debaene.B** ; Infections liées aux cathéters veineux en réanimation. Physiopathologie, diagnostic, traitement et prévention, Ann Fr AnesthRéanim 2001, 20, P : 520-536.
- **Michel.M-C** ; Infection nosocomiale à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez un patient adulte hospitalisé : quel antibiotique choisir ?, Pharmactuel, N°46(1), 2013, P : 23.
- **Mirabaud.MI** ; Entérobactéries à Béta-lactamases à spectre élargi en pédiatrie en 1996, Genève 2003, N : 10303.
- **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, P: 3318-3324.
- **Moolenaar.R-L, Crutcher.J-M, San Joaquin.V-H, et al** ; A prolonged outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit : did staff fingernails play a role in disease transmission ? Infect Control Hosp Epidemiol 2000, 21P : 80-85.
- **Mootien.JY, Zahar.JR** ; Entérobactéries productrices de carbapénémases en médecine intensive : Thérapeutique, Méd. Intensive Réa 2018, 27, P : 372-380.
- **Muylaert.A, Mainil.J-G** ; Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur contagiosité, 2012, 156, P : 109- 123.

-N-

- **Nauciel.C** ; Bactériologie médicale, 1ère édition, Masson, Paris, 2000, P : 59-67, 125-146.
- **Nauciel.C, Vildé.J-L** ; Bactériologie médicale, 2ème édition, Elsevier Masson, Paris 2005, P : 58.
- **Nguyen.K-V, Nguyen.T-V, Nguyen.H-HT, Duyet.V-L** ; Mutations in the *gyrA*, *parC*, and *mexR* genes provide functional insights into the fluoroquinolone-resistant *pseudomonas aeruginosa* isolated in Vietnam, Infection and drug resistance, 2018, 11, P : 257-282.
- **Nicolas-Chanoine.M-H** ; Les Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : où sont les dangers ?, Réanimation, N°21, SRLF et Springer-Verlag, 2012, P : 260-267.

- **Nicolas-Chanoine.M-H, Rober.J** ; La résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif, La résistance des Entérobactéries aux carbapénèmes 2012, P : 1-5.
- **Nordman.P** ; Détection des BLSE chez les entérobactéries, Résistances émergentes aux antibiotiques, Paris 2010.
- **Nordmann.P, Carrer.A** ; Les carbapénémases des Entérobactéries, Archives de pédiatrie 2010, 17, P : 154-162.
- **Nordmann.P, Poirel.L, Dortet.L** ; Rapid detection of carbapenemase producing, bacteria Lancet Infect Dis 2012, 18, P : 1503-1507.
- **Nordmann.P, Gniadkowski.M, Giske.CG, Poirel.L, Woodford.N, Miriagou.V** ; Identification and screening of carbapenemase producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect 2012, 18, P : 432-438.

-O-

- **Obritsh.M-D, Fish.D-N, MacLaren.R, Jung.R** ; National surveillance of antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa isolates obtained from intensive care unit patients from 1993 to 2002, Antimicrob Agent Chemother 2001, 48, P : 4606-4610.
- **Obritsch.M-D, Fish.D-N, 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 : 4606-4610.
- **Oren.I, Sprecher.H, Finkelstein.R, Hadad.S, Neuberger. A, Hussein.K et al** ; Eradication of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae gastrointestinal colonisation with nonabsorbable oral antibiotic treatment : A prospective controlled trial. Am J Infect Control 2013, 41, P : 1160-1161.

-P-

- **Pachori.P, Gothwal.R, Gandhi.P** ; Emergence of antibiotic resistance P. aeruginosa in intensive care unit ; a critical review, Genes Dis jun 2019, 6(2), P : 109-119.
- **Pang.Z, Raudonis.R, Glick.B-R, lin.T-J, Cheng.Z** ; Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa : mecanismes and alternative theurapeutic strategies, - Biotechnology Advances 2019, 37, P : 177-192.
- **Papadimitriou-Olivgeris.M, Bartzavali.C, Christofidou.M, Bereksi.N, Hey.J, Zambardi.G, Spiliopoulou.I** ; Performance of chromID(R) CARBA medium for carbapenemases-producing Enterobacteriaceae detection during rectal screening. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2013.
- **Patel.J-B, Rasheed.J-K, Kitchel.B** ; Carbapenemases in Enterobacteriaceae : Activity, Epidemiology, and laboratory detection, Clinical Microbiology Newsletter 2009, 31, No : 8, P : 55-62.
- **Paterson.D-L, Bonomo.R-A** ; Extended-spectrum β -lactamases : A clinical update, Clin Microbiol Rev, N°18, 2005, P : 657–686.
- **Pavese.P** ; Infections urinaires nosocomiales : définition, diagnostic, physiopathologie, prévention, Traitement, Médecine et maladies infectieuses 2003, 33, P : 266–274.

- **Peleg.A-Y, Seifert.H, Paterson.D-L** ; *Acinetobacter baumannii* : Emergence of a successful pathogen, *Clinical microbiology reviews* 2008, 21(3), P : 538-582.
- **Perry.J-D** ; A Decade of Development of Chromogenic Culture Media for Clinical Microbiology in an Era of Molecular Diagnostics, *Clinical Microbiology Review* April 2017, 30(2), P : 449-479.
- **Pfaller.M-A, Segreti.J** ; Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum beta-lactamases, *CID* 2006, 42(Suppl.4), P : 153-163.
- **Pfaller.M-A, Flamm.R-K, Jones.R-N, Farrell.D-J, Mendes.R-E** ; Activities of tedizolid and linezolid determined by the reference broth microdilution method against 3032 Gram-positive bacterial isolates collected in Asia-Pacific, Eastern Europe, and Latin American countries in 2014. *Antimicrob Agents Chemother* 2016, 60, P : 5393-5399.
- **Philippon.A, Arlet.G** ; **Entérobactéries et bêta-lactamines** : Phénotypes de résistance naturelle, *Pathologie Biologie*, N°60, 2012, P : 112-126.
- **Picao.R-C, Andrade.S-S, Nicoletti.A-G** ; 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, P: 2028-2037.
- **Pilly.E** ; Prescription et surveillance des anti-infectieux chez l'adulte et l'enfant, N°173, *ECN.PILLY* 2018, P : 274.
- **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.
- **Plachouras.D, Karvanen.M, Friberg.LE, Papadomichelakis.E, Antoniadou.A, Tsangaris.I, Karaiskos.I, Poulakou.G, Kontopidou.F, Armaganidis.A, Cars.O, Giamarellou.H** ; Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2009, 53, P : 3430-3436.
- **Poirel.L, Naas.T, Nordmann.P** ; Genetic support of extended-spectrum bêta-lactamases, *Clin microbiol infect*, N°14, 2008, P : 75-81, 58.
- **Poirel.L, Dortet.L, Nordmann.P** ; Diagnostic des carbapénémases : détection et caractérisation. *La Lettre de l'Infectiologue* • Tome XXVIII - no 4 - juillet-août (2013).
- **Pontiès.V, Savitch.Y, Soing-Altrach.S, Colomb Cotinat.M, Blanchard.H, Simon.L** ; Surveillance des Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) en France, Bilan 2004-2016. 37eme Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse (RICAI) 2017 ; P : 58. <http://www.ricai.fr/archives-2017>.
- **Poulakou.G** ; Treatment of infections caused by carbapenemase-producing a Gram positif. *Réanimation* 2015, 112, P : 1-5.
- **Pournaras.S, Zarkotou.O, Poulou.A, Kristo.I, Vrioni.G, Themeli-Digalaki.K, Tsakrisa.A** ; A Combined Disk Test for Direct Differentiation of Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae in Surveillance Rectal Swabs, *Journal of Clinical Microbiologie* Sept 2013, 51(9), P : 2986-2990.

- **Potron.A, Poirel.L, Nordmann.P** ; Emerging broadspectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* : Mechanisms and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents*, Jun 2015, 45(6), P : 568-585.
- **Prado.T, Pereira.W-C, Silva.DM, Seki.L-M, Carvalho.A-P, Asensi.M-D** ; Detection of extended spectrum béta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in effluents and sludge of a hospital sewage treatment plant, *Lett Appl Microbiol*, N°46, 2008, P: 136-141.
- **Prod'hom.G, Bille.J** ; Diagnostic bactériologique rapide : méthode conventionnelle aux méthodes moléculaires modernes, *Réanimation* 15, 2006, P : 180-186.

-Q-

- **Quincampoix.J-C, Mainiardi.J-L** ; Mécanismes de résistances des cocci à Gram positif. *Réanimation* Mai 2001, 10, P : 267-275.

-R-

- **Rabaud.C et May.T** ; Acide fusidique, *EncyclMédChir, Maladies infectieuses*, 8-004-J-20, 2000, P : 3.
- **Rahal.J-J** ; Novel antibiotic combinations against infections with almost completely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species, *Clin Infect Dis* 2006, 43(2), P : 95-99.
- **Rahal. K, Benamrouch.D** ; Les antibiotiques, *Nouvelles molécules antibiotiques*, 5éme édition, 2013, n°5453, P : 29-44.
- **Rai.S, Manchanda.V, Singh.N-P, Kaur.I-R** ; Zinc-dependant carbapenemases in clinical isolates of family Enterobacteriaceae, *Clinical Microbiology and Infection Diseases* 2011, 29(3), P : 275-279.
- **Reiffel.A-J, Barie.P-S, Spector.J-A** ; A Multi-Disciplinary Review of the Potential Association between Closed-Suction Drains and Surgical Site Infection, *Surg Infect*, 2013, 14(3), P : 244-269.
- **Rezaee.M-A, Pajand.O, Nahaei.M-R, Mahdian.R, Aghazadeh.M, Ghojzadeh.M, Hajjobri.Z** ; Prevalence of Ambler class A β -lactamases and ampC expression in cephalosporin-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii*, *Diagnostic Microbiology and Infection Disease* 2013, 73, P : 330-334.
- **Rhimi-Mahjoubi.F, Bernier.M 2, Arlet.G, Ben Jemaa.Z, Jouve.P, Hammami.A, Philippon.A** ; Mise en évidence de la céphalosporinase plasmidique ACC-1 dans différentes Entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella*) isolées dans un hôpital tunisien (Sfax 1997–2000), *Pathol Biol* N°50, 2002, P : 7-11.
- **Ricard.J-D** ; Prévention des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique comment l'améliorer, *Réanimation* 2007,16, P : 249-252.
- **Robert.J** ; Conduite à tenir devant un malade porteur d'un entérocoque résistant à la vancomycine, *Réanimation* 2007 ,16(3), P : 259–262.
- **Robertino.M, Miller L-A, Heather.A-M, Daniel.F-S** ; *Acinetobacter baumannii* 2002-2008 : Increase of Carbapenem-Associated Multiclass Resistance in the United States, *Microbial Drug Resistance* 2010, 16(3), P : 209-215.

- **Robina.F, Gibolda.L, Bonneta.R** ; Résistances naturelles et acquises aux bêta-lactamines chez les Entérobactéries : Comment les identifier en pratique quotidienne?, Revue francophone des laboratoires, N°445, 2012.
- **Rodriguez-Bano.J, Lopez-Cerero.L, Navarro.M-D, Diaz de Alba.P, Pascual.A** ; Faecal carriage of extended spectrum beta-lactamases producing E.coli : prevalence, risk factors and molecular epidemiology, J Antimicrob Chemother, N°62, 2008, P : 1142-1149.
- **Rong.S-L, Leonard.S-N** ; Heterogeneous vancomycin-resistance in Staphylococcus aureus, a review of epidemiology, diagnosis and clinical significance, 44, Ann pharmacother 2010, P : 844-850.
- **Ros.A** ; La résistance bactérienne ou le naufrage des antibiotiques, VIIIe assemblée annuelle des CLIN du sud-Est Lyon, 1999.
- **Roux.V, Rolain.JM** ; Identification des bactéries par biologie moléculaire, EMC maladies infectieuses 2014, 11(1), Article (8000-1-10).
- **Ruimy.R, Brisabois.A, Bernede.C, Skurnik.D, Barnat.S, Arlet.G, Momcilovic.S** ; Organic and conventional fruits and vegetables contain equivalent counts of gram negative bacteria expressing resistance to antibacterial agents, Environ Microb, N°12, 2010, P : 608-615.
- **Ruiz.L, Dominguez.M-A, Ruiz.N** ; Relationship between clinical and environmental isolates of Pseudomonas aeruginosa in a hospital setting, Arch Med Res 2004, 35, P: 251-257.

-S-

- **Saïdani.M, Boutiba.I, Ghozzi.R, Kammoun.A, Ben Redjeb.S** ; Profil bactériologiques des bactériémies à germes multirésistants à l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis, Médecine et maladies infectieuses, Vol 36, N°3, 2006, P : 163-166.
- **Sakoulas .G, Moellering .R-C** ; Increasing antibiotic resistance among methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains, Clin Infect Dis, N°46(Suppl 5), 2008, P : 360-367.
- **Samanta .D, Elasri.M-O** ; The msaABCR operon regulates resistance in vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus strains, Antimicrob agents chemother, N°58, 2014, P: 6685-6695.
- **Schwarz.S, Chasus-Dancla.E** ; Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance, Vet .Res, 32, 2001, P : 201-225.
- **Seongman.B, ChulKim.M, Park.S-J, Kim.H-S, Sung.H, Kim.M-N, Sung-Han.H, Sang-O.L, Sang-Ho.C, Jun.H-W, Yang.S-K, YongPil.C** ; In Vitro Synergistic Activity of Antimicrobial Agents in Combination against Clinical Isolates of Colistin-Resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrobial Agents and Chemotherapy November 2016, Volume 60.
- **Senn. L, Petignat.C, Chabanel.D, Zanetti.G** ; Contrôle d'une épidémie d'Entérocoques résistant à la vancomycine dans plusieurs hôpitaux de Suisse, Rev Med Suisse 2013, 9, P : 882-891.
- **Shimi. A, Touzani. S, Elbakouri.N** ; Les pneumopathies nosocomiales en réanimation, Réanimation 2015, 22(1), P : 1-7.

- **Société Française d'Anesthésie et de Réanimation SFAR, Société de réanimation de langue française SRLF.** Prévention des infections nosocomiales en réanimation (transmission croisée et nouveau-né exclus). *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 2009(28), P : 912–920.
- **Singhal.N, Kumar.M, Kanaujia.P-K, Viridi.J-S ;** MALDI-TOF mass spectrometry : an emerging technology for microbial identification and diagnosis, *Front Microbiol*, 2015.
- **Sola.C, Lamberghini.R-O, Ciarlantini.M ;** Heterogeneous vancomycin - intermediate susceptibility in a community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic clone, in a case of infective endocarditis in Argentina, *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, N°10, 2011, P : 10-15.
- **Stefani.S, Chung.D-R, Lindsay.J-A, Friedrich.A-W, Kerans.A-M, Westh.H, Mackenzie.F-M ;** MRSA : global epidemiology and harmonization of typing methods, *International journal of antimicrobial agents*, N°39(4), 2012, P : 273-282.
- **Stover.C, Pharm .X-Q, Erwin.A-L., Mizoguchi.S-D, Warrner.P et al ;** Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen, *Nature* 2000, 406, P : 959.
- **Stover.G-B, Drake.D ;** Virulence of different *Pseudomonas* species in a burned mouse model : tissue colonization by *Pseudomonas cepaciae*. *Infection and Immunity* 1983, 41 (3), P : 1099-1104.
- **Stover.C-K, Pham.X-Q, Erwin.A-L, Mizoguchi.S-D, Warrenner.P, Hickey.M-J, Brinkman.S-D, Hufnagle.W-O, Kowalik.D-J, Lagrou.M, Garber.R-L, Goltry.L, Tolentino.E, Westbrook-Wadman.S, Yuan.Y, Brody.L-L, Coulter.S-N, Folger.K-R, Kas.A, Larbig.K, Lim.R, Smith.K, Spencer.D, Wong.GK-S, Wu.Z, Paulsen I-T, Reizer.J, Saier.M-H, Hancock.REW, Lory.S, Olsen.M-V ;** Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen, *Nature* 2000, 506, P : 953-964.
- **Stucki.K, Nendaz.M, Harbarth.S ;** Infections à Entérocoques : du plus simple au plus complexe..., *Rev Med Suisse* 2014, volume 10, P : 1918-1923.
- **Subiros.M, Bervas.C, Venier.A-G, Cotinat.M-C, Soing-Altrach.S, Pontès.V, Blanchard.H, Simon.L, Bernet.C, Sénécha.H, Vaux.S;** Entérocoques résistants aux glycopeptides dans les établissements de santé en France: Données épidémiologiques du signalement des infections nosocomiales Juillet 2001-Juin 2015, *Bruno Coignard BEH* 24-25 JUILLET 2016 P: 419-427.
- **Surcouf.C, Fabre.M, Enouf.V, Cade.S, Soler.C, Mac Nab.C, Samson.T, Foissaud.V ;** Portage d'Entérocoques résistants aux glycopeptides : Les techniques d'isolement et d'identification actuelles sont-elles suffisantes, *Pathologie Biologie* 2011, 59, P : 148-149.
- **Suwantarat.N, Logan.L-K, Carroll.K-C, Bonomo.R-A, Simner.P-J, Rudin.S-D, Milstone.A-M, Tekle.T, Ross.T, Tamma.P-D ;** The prevalence and molecular epidemiology of multidrug-resistant Enterobacteriaceae colonization in a pediatric intensive care unit, *Infect control hosp epidemiol*, N°37(5), Epub 2016, P : 535-543.

- **Tamma.PD, Hsu.AJ** ; Optimizing therapy for vancomycin resistant Enterococcal bacteremia in children, *Curr Opin Infect Dis* 2014, 27, P : 517-527.
 - **Temkin.E, Adler.A, Lerner.A, Carmeli.Y** ; Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae : biology, epidemiology and management, *Ann NY Acad Sci USA* 2014, 1323, P : 22-42.
 - **Thibault.M** ; Les infections nosocomiales : L'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause : Exemple de quelques techniques de diagnostic permettant cette identification précoce, 2011, P : 1-8.
 - **Tidrarine.S** ; Epidémiologie des Entérobactéries multirésistantes productrices de carbapénémase à l'HIT, N°187, 2019.
 - **Tominaga.H, Setoguchi.T, Kawamura.H, Kawamura. I, Nagano. S, Abematsu.M, Tanabe.F, Ishidou.Y, Yamamoto.T et Komiya.S** ; Risk factors for unavoidable removal of instrumentation after surgical site infection of spine surgery. *Medicine* 2016, 95(43), P : 5118
 - **Traoré.O, Souweine.B, Leclercq.R** ; Dans quelles situations instituer des précautions de type « contact » chez les patients porteurs de bactéries multirésistantes ?, *Réanimation* 2002,11, P : 451-63.
 - **Trautmann.M, Michalsky.T, Wiedeck.H** ; Tap water colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in a surgical intensive care unit (ICU) and relation to *Pseudomonas* infections of ICU patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2001, 22, P: 49-52.
 - **Trifi.A, Abdellatif.S, Oueslati.M, Zribi.M, Daly.F, Nasri.R, Mannai.R, Fandri.C, Lakha.S**; Infections nosocomiales état des lieux dans un service de reanimation, *La tunisie Medicale* - 2017 ; Vol 95 (n°03), P: 179-184.
 - **Tristan.A, Philippe-Rasigade.J** ; *Staphylococcus* spp, ECN 2019, P: 2. www.sfm-microbiologie.org > 2019/07 > BACTERIE_Staphylococcus/
- V-
- **Validi.M , Soltan Dallal.M-M, Douraghi.M, Mehrabadi.J-F, Foroushani.A-R** ; Identification of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-producing *Klebsiella oxytoca* in Clinical Isolates in Tehran Hospitals, Iran by Chromogenic Medium and Molecular Methods, *Osong Public Health Res Perspect* 2016, 7(5), P : 301-306.
 - **Valverde.A, Grill.F, Coque.T-M, Pintado.V, Baquero.F, Canton.R, Cobo.J** ; High rate of intestinal colonization with extended spectrum beta-lactamases producing organisms in household contacts of infected community patients, *JClin Microb*, N°46, 2008, P: 2796-2799.
 - **Van Bambeke.F, Tulkens.P** ; Pharmacologie et pharmacothérapie anti-infectieuse : antibiotiques, antifongiques, *Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire*, 2009-2010, P : 16.
 - **Van Bambeke.F** ; Lipoglycopeptide antibacterial agents in Gram-positive infections : A comparative review, *Drugs* 2015, 75(18), P : 2073–2095.

- **Venet.F, Monneret.G** ; Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression, *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14, P : 121–137.
- **Vikas.M, Sinha.S, Singh.N-P** ; Multidrug Resistant Acinetobacter. *Journal of Global Infectious Diseases*, Sep-Dec 2010, Vol-2, Issue-3.
- **Villalobos.H, Rodriguez-Struelens.M-J** ; Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implication pour le réanimateur. *Réanimation* 2006, 15(3), P : 205-213.
- **Vodovara.D, Marcadeb.G, Raskineb.L, Malissina.I, Megarbane.B** ; Entérobactéries productrices de béta-lactamases à spectre élargi : Épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention, *La revue de médecine interne*, N°34, 2013, P : 687-693.
- **Von-Gunten.V, Reymond.J-P, Eckert.P, Gerstel.E, Troillet.N** ; L'utilisation rationnelle des antibiotiques : un objectif interdisciplinaire, *Rev Med Suisse*, volume 0, 2004, P : 24045.
- **Vrioni.G, Daniil.I, Voulgari.E, Ranellou.K, Koumaki.V, Ghirardi.S, Kimouli.M, Zambardi.G, Tsakris.A** ; Comparative evaluation of a prototype chromogenic medium (ChromIDCARBA) for detecting carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in surveillance rectal swabs, *J Clin Microbiol* 2012, 50, P:1841-1846.

-W-

- **Wafi.S** ; Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des isolats cliniques d'Acinetobacter baumannii 2017, thèse pour l'obtention de doctorat en médecine de N° : 085/17.
- **Walsh.T-R, Bolmström.A, Qwärntröm.A, Gales.A** ; Evaluation of a new E-test for detecting MLB in routine clinical testing, *J Clin Microbiol* 2002, 40(8), P : 2755-2759.
- **Wendt.C, Dietze.B, Dietze.E, Rüden.H** ; Survival of Acinetobacter baumannii on dry surfaces, *Journal of clinical microbiology* 1997, 35(6), P : 1394-1397.
- **Weiss.K** ; La résistance bactérienne la nouvelle guerre froide, *Le médecin du québec*, 2002, vol 37, n°3, P : 41-49.
- **Wentao.N, Xiaodi.S, Xiuzhen.D, Junchang.C, Rui.W, Youning.L** ; In vitro synergy of polymyxins with other antibiotics for Acinetobacter baumannii : A systematic review and meta-analysis, *Int J Antimicrob Agents* Jan 2015, 45(1), P : 8-18.
- **Werckenthin .C, Cardoso.M, Martel.JL, Schwarz.S** ; Antimicrobial resistance in Staphylococci from animals with particular reference to bovine Staphylococcus aureus, porcine Staphylococcus hyicus and Canine Staphylococcus Intermedius, *Veterinary Research*, vol 32, N° 3–4, 2001, P: 341–362.
- **Wikler.M-A** ; Clinical and laboratory standards institute, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : seventeenth informational supplement, Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards Institute ; 2007.
- **Wootton.M, Howe.R, Hillman.R, Walsh.T-R, Bennett.P-M, Macgowan.P-A** ; Modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in Staphylococcus aureus in a UK hospital, *J antimicrobe chemother*, N°47(4), 2001, P: 399-403.

- **Wright.H, Bonomo.R-A, Paterson.D-L** ; New agents for the treatment of infections with Gram-negative bacteria : restoring the miracle or false dawn?, Clin microbiol infect, N°23(10), Epub 2017, P : 704-712.

-X-

- **Xiaomeng.D, Fengzhe.C, Yajun.Z, Haihong.L, Yongjuan.L, Lixian.M** ; In vitro activities of sitafloxacin tested alone and in combination with rifampin, colistin, sulbactam, and tigecycline against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*, Int J Clin Exp Med. 2015, 8(5), P : 8135–8140.
- **Xie.R, Xiaohua D-Z, Qi.Z, Peng.B and Jun.Z** ; Analysis of global prevalence of antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infections disclosed a faster increase in OECD countries. Emerging Microbes & Infections 2018, vol 7, P : 31.

-Y-

- **Yahyaoui.G** ; Etat des lieux de la résistance bactérienne au CHU Hassan II de Fes 2018. Mikrobiyol Bul
- **Yala.D, Merad.A.S, Mohammedi.D, Ouar-Korichi.MN** ; Classification et mode d'action des antibiotiques, Médecine du Maghreb, n°91, 2001, P : 5-12.
- **You-Chao.H, Bing.L, Brian.M-P, Lin.L, Zhen-bo.XU, Shirliff.M-E** ; Chromogenic media for MRSA diagnostics, BaltimoreMD, 21201 USA, 2015.

-Z-

- **Zegmout.A** ; Les infections à bactéries multirésistantes en réanimation: incidence, facteurs de risque et facteurs pronostiques, Thèse doctorat médecine, Rabat, N°206, 2008.
- **Zogheib.E, Dupont.H** ; Entérobactéries multirésistantes, Conférences d'actualisation, Elsevier SAS, 2005, P : 153-165.

LES COMMUNICATIONS

-A-

- **Aggoun.N, Tali-Maamar.H, Assous.F, Guettou.B, Laliem.R, Hasnaoui.S, Zerouki.A, Rahal.K, Naim.M** ; Sensibilité aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries productrices de carbapénèmasesn provenant d'isolats cliniques en Algéries. Communication affichée. 2015, Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse (RICAI).
- **Azzam.A, Haouchine.D, Chenif.Y, Belkacem.A, Achir.N, Younes.F, Ait-Ameur.A** , Evolution des germes hospitaliers issus de l'environnement au CHU de Tizi-ouzou en 2011 ,Communication orale ,5^{ème} journée nationale d'hygiène hospitalière et de lutte contre les infections associées aux soins de l'hôpital Bologhine 2012.

-B-

- **Bouheraoua.S, Djedjig.F, Benamrouche.N, Tali Maamar.H, Rahal.K**; Evolution de la résistance aux antibiotiques des Entérocoques: place de l'*E.faecium*. Communication affichée. 8^{ème} Journée National d'Hygiène et de lutte contre les infections associées aux soins, Mai 2015.
- **Bouvier-Selkovec.C** ; Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques (BHRe) Situation épidémiologique, Communication affichée, Journée annuelle des EOH et présidents de CLIN, 19 décembre 2013.

-C-

- **Cattoen.C** ; Techniques et limites des méthodes de détection des Entérobactéries Productrices de Carbapénèmase (EPC). Communication affichée. XXIIIème congrés SF2H.

-M-

- **Mezaghcha.W, Bendjamaa.A, Sahli.F, Radji.N** ; Les souche d'*Acinetobacter baumannii* isolées au service de réanimation médicale - CHU de Sétif et leurs sensibilités aux antibiotiques . Communication affichée ,7^{ème} journée nationale d'hygiène hospitalière et de lutte contre les infections associées aux soins de l'hôpital Bologhine 2014.

-Z-

- **Zouagui.S, Bekkhoucha.SN, Amhis.W, Abi-Ayad.R, Boubekri.I, Benmehdi.L, Lazizi.A, Louail.AA** ; Situation des SARM dans l'ouest Algérien, Communication N°5, 8^{ème} journée national d'Hygiène hospitalière et de lutte contre les infections associées aux soins, 28 Mai 2015, P : 10.
- **Zouagui.S, Bekkhoucha.SN et al** ; Situation des SARM dans l'ouest Algérien le 28 Mai 2015. 8^{ème} Journée National d'Hygiène Hospitalièreet de lutte contre les infections associées aux soins.

LES OUVRAGES

-B-

- **Benslimani.A, Belouni.R, Seghier.M, RamdaniBouguessa.A**; Manuel de microbiologie, 3^{ème} édition, OPU, P: 98-99.
- **Berche .P, Kayal.S, Poyart. C, Nassif .X**; Bactériologie générale, 2002/2003, P.C.E.M.2, P : 14.
- **Bryskier.A** ; Fluoroquinolones (II), Usage en thérapeutique et tolérance. EncyclMédChir, Maladies infectieuses, 8-004-B-11, 1999, P : 14.

-C-

- **Cattoir.V** ; Chloramphénicol, fosfomycine, acide fusidique et polymyxines, in : ANTIBIOGRAMME, 2^{ème} édition, 2006, P : 349-364.

-D-

- **Denis.F, Poly.MC, Martin.C, Bingen.E, Quintin.R** ; Bactériologie médical : Techniques usuelles, Elsevier Masson, 2001, P : 332-334.
- **Denis.F, Ploy.M-C, Martin.C, Cattoir.V** ; Bactériologie médicale, Techniques usuelles, 3^{ème} édition, 2016.
- **Denis.F, Ploy.M-C, Martin.C, Bingen.E, Quentin.R** ; Bactériologie médicale : Techniques usuelles, 2^{ème} édition. Issy-les Moulineaux : Masson, 2011, P : 631

-F-

- **Fauchère.J-L, Avril.J-L** ; Bactériologie générale et médicale, 2^{ème} édition : Elipses 2002, P : 141, 226-238.
- **François.J, Chomar.M, Weber.M, GERARD.A** ; De l'antibiogramme à la prescription, BIOMERIEUX, 2^{ème} édition, 2003, P : 8-22.

-J-

- **Jehl.F, Chomart.M, Weber.M, Gerard.A** ; De l'antibiogramme à la prescription. Biomerieux, 2^{ème} édition, Nancy L'étoile, 2003, P : 8-31.
- **Joly-Guillou.M-L** ; Acinetobacter baumannii : épidémiologie et diagnostic microbiologique, Biologie médicale [90-05-0005]-02/04/2013.

-H-

- **Holmes.K-K, Bertozzi.S, Bloom.B-R, Jha.P, Gelband.H, DeMaria.L-M, Horton.S** ; Major Infectious Diseases : Key Messages from Disease Control Priorities, Third Edition, The international bank for reconstruction and development / The world bank, 2017, Chapter 1.

-K-

- **Kayser.FH, Bottger.EC, Zinkernagel.RM, Haller.O, Eckert.J, Deplazes.P** ; Manuel du poche de bactériologie médicale, traduction de la 11^{ème} édition allemande, Flammarion, Paris, 2008, P : 258, 292-293.

-L-

- **Le MINOR.L, Véron.M** ; Bactériologie Médicale, Flammarion 1989, P : 1107.

-N-

- **Naas.T, Nordman.P** ; Bêtalactamines et Acinetobacter baumannii, Antibiogramme ,3eme Edition, Edition ESKA 2012, P : 459-473.
- **Nauciel.C** ; Bactériologie médicale, 1ère édition, Masson, Paris, 2000, P : 59-67, 125-146.
- **Nauciel.C, Vildé.J-L** ; Bactériologie médicale, 2ème édition, Elsevier Masson, Paris 2005, P : 58.

-P-

- **Piroth.L, Dijon, Pily.E** ; Antibiothérapie, 26ème édition, 2018, P : 28.
- **Poyart.C** ; Tétracyclines, in : ANTIBIOGRAMME, 2ème édition, 2006, P : 325-334.

-R-

- **Rahal.K, Benslimani.A** ; Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale 6ème édition 2011.
- **Rahal.K, Benslimani.A, Tali-Maamar.H, Missoum.M-F, Kechich.K, Bounar.S, Ammari.H** ; Standardisation de l'antibiogramme a l'echelle nationale (médecine humain et vétérinaire), 6ème édition, 2011.
- **Rahal.K, Benslimani.A, Tali-Maamar.H, Missoum.M-F, Kechich.K, Aboun.A, Ammari.H** ; Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale, Médecine humaine et vétérinaire, 7ème édition, 2014.

-S-

- **Singleton.P** ; Bactériologie 6eme édition, Dunod 2005, P : 454-455.

LES SITES INTERNET

-A-

- https://www.publichealthontario.ca/fr/eRepository/RPAP_All_HealthCare_Settings_FR2012.pdf Agence ontarienne de protection et de promotion de la santé 2013,

-B-

- <http://www.biomerieux-culturemedia.com/product/3-chromid-esbl>
bioMérieux-Culture Media/product-ChromID® ESBL

-C-

- <http://www.cclinouest.com/>
CENTRE DE COORDINATION DE LUTTE CONTRE LES INFECTIONS NOSOCOMIALES DE L'OUEST (CCLIN Oeust) 2011. Précautions complémentaires en cas des bactéries hautement résistantes à portage digestif, 2011, P: 1-2.
- [www.cclinparisnord.org/REGION/NPC/EPC190313/Grandbastien190313.pdf/](http://www.cclinparisnord.org/REGION/NPC/EPC190313/Grandbastien190313.pdf)
CENTRE DE COORDINATION DE LA LUTTE CONTRE LES INFECTIONS NOSOCOMIALES (CCLIN), 2013. Les recommandations Françaises pour la gestion autour d'un patient porteur d'EPC pour prévenir la diffusion de cette Bactérie Hautement Résistante aux antibiotiques émergente (BHRé).
- <http://www.cclin-arlin.fr/nosopdf/doc04/0013684.pdf>
COMITE DE LUTTE CONTRE LES INFECTIONS NOSOCOMIALES (CCLIN), 2017.
- http://www.cpiasauvergnernhonealpes.fr/Reseaux/ISO/Protocole/2014/Protocole_ISO_SE_2014.pdf
CENTRE DE COORDINATION DE LUTTE CONTRE LES INFECTIONS NOSOCOMIALES DE (CCLIN Sud-Est), Janvier 2014. Protocole ISO Sud-Est.
- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19300408/>
CENTRES FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC), February 2013. Guidance of control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase producing Enterobacteriaceae in acute care facilities.
- https://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2011/11-01/ste_20110001_0100_0127.pdf
Circulaire DGS/RI/DGOS/PF N° 2010-413 du 6 décembre 2010 relative à la mise en œuvre de mesure de contrôles des cas importés d'Entérobactéries productrices carbapénémases (EPC).
- https://www.health.belgium.be/sites/default/files/uploads/fields/fpshealth_theme_file/avis_9277_mdros.pdf
CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE (CSS), 2017. Supérieur de la Santé : Recommandations en matière de prévention, maîtrise et prise en charge des patients porteurs de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (MDRO) dans les institutions de soins, Avis N°9277.

-E-

- <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data?s=EARS-Net+Annual+Report/>
EUROPEAN ANTIMICROBIALS RESISTANCE SURVEILLANCE SYSTEME EARS-Net 2011
- http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/database/Pages/database.aspx.
EUROPEAN ANTIMICROBIALS RESISTANCE SURVEILLANCE SYSTEME (EARSS), EARS-Net BMR-Raisin via France 2017.
- <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/summary-latest-data-antibiotic-resistance-european-union>
EUROPEAN ANTIMICROBIALS RESISTANCE SURVEILLANCE SYSTEME (EARSS), 2017. Summary of the latest data on antibiotic resistance in the European Union EARS-Net surveillance data November. European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, 2017

-H-

- https://www.hassante.fr/portail/jcms/c_665169/strategie-d-antibiotherapie-et-prevention-des-resistances-bacteriennes-en-etablissement-de-sante
HAUTE AUTORITE DE SANTE (HAS), 2008. Stratégie d'antibiothérapie et prévention des résistances bactériennes en établissement de santé.
- http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2581332/fr/sivextro-tedizolide-antibiotique-de-la-classe-des-oxazolidones/
HAUTE AUTORITE DE SANTE (HAS), Novembre 2015. Orbactiv (oritavancine), antibiotique de la classe des glycopeptides.
- http://nosobase.chulyon.fr/recommandations/hcsp/2010_enterobactBLSE_HCSP.pdf/
HAUTE CONSEIL DE LA SANTE PUBLIQUE (HCSP), 2010. Recommandations relatives aux mesures à mettre en oeuvre pour prévenir l'émergence des entérobactéries BLSE et lutter contre leur dissémination.
- https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/Telecharger?NomFichier=hcspr20130710_recoprevtr_ansxbhre
HAUTE CONSEIL DE SANTE PUBLIQUE (HCSP), Juillet 2013. Prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRe).

-I-

- <http://www.inspq.qc.ca>
INSTITUT NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE DU QUÉBEC (INSPQ), 2015. Mesures de prévention et contrôle de la transmission des bacilles Gram négatif multirésistants dans les milieux de soins aigus au Québec, Comité sur les infections nosocomiales du Québec (CINQ), P : 16.
- http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2008/41_42/index.htm
INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE (InVS), 4 Novembre 2008. Numéro thématique - Contrôle des Entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) : Etat des lieux en France, Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH), n° 41-42
- www.invs.sante.fr/fiche_aeruginosa_web.pdf.

INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE (INVS), OCTOBRE 2012. Pseudomonas aeruginosa (fiche technique).

- <http://www.inrs.fr/actualites/parution-hygiene-securite-travail-244.html>.

INRS 2017. Revue Hygiène et sécurité du travail : numéro d'octobre 2016

-M-

- https://elibrary.worldbank.org/doi/full/10.1596/978-1-4648-0524-0_ch1
Major Infectious Diseases 2017 : Key Messages from Disease Control Priorities, Third Edition

-O-

- <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/249548/9789242509762-fre.pdf;jsessionid=ED1CC80D26F8F099E6D462D2D88B45FF?sequence=1>
OMS 2016. Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens.
- <https://www.who.int/iris/bitstream/10665/249548/1/9789242509762-fre.pdf?ua=1>
OMS 2017 ; Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens, ISBN 978 92 4 2509762.
- <https://www.notre-planete.info/actualites/460-bacteries-resistantes-antibiotiques>
OMS février 2018. La résistance aux antibiotiques "représente une grande menace pour la santé dans le monde".
- http://invs.santepubliquefrance.fr/beh/2013/28-29/2013_28-29_5.html, 2015.
OBSERVATOIRE NATIONAL DE L'ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES (ONERBA), Rapport d'activité annuel 2013 - 2014.

-P-

- <http://www.ifsidijon.info/v2/wpcontent/uploads/2018/01/Pr%C3%A9cautions-compl%C3%A9mentaires-.pdf>.
PC 2018-SEHH-CHU Dijon.

-R-

- <http://www.sante.dz/aarn>
RESEAU ALGERIEN DE SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES (AARN), 2014. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 14^{ème} rapport d'évaluation (janvier à décembre 2013).
- <http://www.sante.dz/aarn>
RESEAU ALGERIEN DE SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES (AARN), 2015. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 15^{ème} rapport d'évaluation (janvier à décembre 2014).
- <http://www.sante.dz/aarn>
RESEAU ALGERIEN DE SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES (AARN), 2016. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 16^{ème} rapport d'évaluation (janvier à décembre 2015).
- <http://www.sante.dz/aarn/>

RESEAU ALGERIEN DE SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES (AARN), 2017. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 17^{ème} rapport d'évaluation (janvier à décembre 2016).

- <http://www.sante.dz/aarn/>

RESEAU ALGERIEN DE SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES (AARN), 2018. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 18^{ème} rapport d'évaluation (janvier à décembre 2017).

- http://www.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=684.

RESEAU D'ALERTE D'INVESTIGATION ET DE SURVEILLANCE DES INFECTION NOSOCOMIALES (RAISIN) ; Surveillance des bactéries multi résistantes dans les établissements de santé en France réseau BMR-Raisin, résultats 2007-2009.

- www.invs.sante.fr/publications/2006/enp2006_protocole/index.html

RESEAU D'ALERTE D'INVESTIGATION ET DE SURVEILLANCE DES INFECTION NOSOCOMIALES (RAISIN). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, France, juin 2006. Saint-Maurice (France): Institut de veille sanitaire; 2009.

- <http://invs.santepubliquefrance.fr/bmr-raisin/>

Réseau BMR-Raisin ; Le bon usage des ATB .2012 (Actualisation 17 novembre 2016).

-S-

- <https://www.sf2h.net/publications/actualisation-precautions-standard-2017>
SF2H, juin 2017. Actualisation des précautions standards, Hygiènes, volume XXV, N°hors série.

-T-

- https://assets.thermofisher.com/TFSAssets/LSG/manuals/X6555C_FR.pdf.
Test d'agglutination au latex de la protéine fixatrice de pénicilline (PFP2/).

-W-

- <http://www.mednet.gr/whonet/>
WHONET Grèce 2019
- <https://doi.org/10.3343/alm.2014.34.1.20>
- <https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/antibioresistances-infections-nosocomiales-enterocoques-resistant-antibiotiques-78789/>
- <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2012/654939/>
- <http://www.mednet.gr/whonet/>
- <http://www.actusoins.com/11895/une-souche-dacinetobacter-baumannii-multiresistante-se-developpe-en-france.html>
- <http://invs.santepubliquefrance.fr/dossiers-thematique/Maladies-infectieuses/infections-associees-aux-soins/surveillance-des-infections-associees-aux-soins-IAS/Acinetobacter-resistant-a-l-imipenemea/>
- <http://www.microbes-edu.org/mecanisme/bla/generalites.html>.

- <http://www.biomerieux.com/fr/milieux-de-culture-chromogenes-chromid-resultatsrapides-fiables-facilement-interpretables>.
- <http://www.msmanuals.com/fr/accueil/infections/antibiotiques/oxazolidinones-lin%C3%A9zolidine-et-t%C3%A9dizolidine>
- www.oxid.com.
- <https://www.vidal.fr/classifications/atc/c:5599>
- <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01738787/>
- http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/database/Pages/database.aspx
- <http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/bilans-dactivites.html>.
- www.invs.santé.fr/fiche_aeruginosa_web.pdf
- <https://www.cpias-pdl.com/accompagnement/bacteries-hautement-resistantes-emergentes-bhre/>.

ANNEXES

PLAN DES ANNEXES

ANNEXE I : Recherche de la résistance aux ATB.....	I
ANNEXE II : Tests complémentaires pour SARM.....	XII
ANNEXE III : Recherche de la résistance pour les entérobactéries.....	XIII
ANNEXE IV : La recherche des souches productrices de carbapénèmases.....	XVII
ANNEXE V : EPC ET ERG: support génétique et identification.....	XIX
ANNEXE VI : Appareillage, matériels non biologique, milieux de cultures, colorants et réactifs d'identification.....	XXVI

ANNEXE I : RECHERCHE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

***Antibiogramme par méthode de dilution en milieu gélosé :**

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également :

- À la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne ;
- À l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles.

Mode opératoire :

Préparation de gélose :

- La gélose Mueller-Hinton fondue au bain-marie a été versée en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4 mm.
- Séchées avant l'emploi.

Préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, prélever à l'aide d'un écouvillon sec stérile 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 McF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. 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.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

Application des disques d'antibiotiques :

- Les disques d'antibiotique à tester sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée, en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu et ne pas déplacer les disques après application.
- Les disques d'antibiotique doivent être espacés de 24mm, centre à centre.
- Incuber à 35-37°C pendant 24h.

Lecture et interprétation :

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories « sensible, intermédiaire ou résistante ».

Entérobactéries	<i>Pseudomonas spp</i>	<i>Acinetobacter spp</i>	<i>S.maltophilia</i>	<i>Staphylococcus spp</i>	<i>Enterococcus spp</i>
Ampicilline ^a (10µg)	Ticarcilline(75µg)	Ticarcilline(75 µg)	Céftazidime (CMI)	Pénicilline(10UI)	Ampicilline ^a (10µg)
Amoxicilline+Ac. Clavulanique (20/10µg)	Ticarcilline+Ac Clavulanique(75/10µg)	Ticarcilline+Ac Clavulanique(75/10)	Ticarcilline+ Ac Clavulanique (CMI)	Oxacilline (CMI seulement)	Gentamicine (120µg)
Aztréonam ^c (30µg)	Pipéracilline(100µg)	Pipéracilline(100 µg)	Chloramphénicol (CMI)	Céfoxitine(30µg)	Streptomycine (300)
Céfalotine ^d (30µg)	Céftazidime(30µg)	Céftazidime(30 µg)	Minocycline (30µg)	Amikacine(30µg)	Erythromycine (15µg)
Céfazoline(30µg)	Aztréonam(30µg)	Imipénème(10 µg)	Lévoﬂoxacine (5µg)	Gentamicine(10µg)	Furanes(300 µg)
Céfoxitine(30µg)	Imipénème(10µg)	Amikacine(30 µg)	Triméthopri- me+Sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)	Kanamycine(30µg)	Tétracycline(30µg)
Céfotaxime ^b (30µg)	Amikacine(30µg)	Gentamicine(10 µg)		Erythromycine(15µg)	Vancomycine(30µg)
Céftazidine(30µg)	Gentamicine(10µg)	Tobramycine(10 µg)		Clindamycine(2µg)	Teicoplanine(30 µg)
Imipénème(10µg)	Tobramycine(10µg)	Nétilmicine(CMI Seulement)		Pristinamycine(15µg)/ Quinupristine- Dalphopristine(15µg)	Ciproﬂoxacine(5 µg)
Ertapénème(10µg)	Nétilmicine(30µg)	Ciproﬂoxacine(5 µg)		Ofloxacine(5)	Lévoﬂoxacine(5 µg)
Amikacine(30µg)	Ciproﬂoxacine(5µg)	Lévoﬂoxacine(5 µg)		Ciproﬂoxacine(5µg)	Rifampicine(5 µg)
Gentamicine(10µg)	Lévoﬂoxacine(5µg)	Doxycycline ^c (30µg)		Lévoﬂoxacine(5µg)	Fosfomycine(200µg)
Ac.nalidixique(30µg)	Fosfomycine(CMI)	Triméthopri- me+Sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)		Chloramphénicol(30µg)	Quinupristine- Dalphopristine(15 µg)
Ciproﬂoxacine(5µg)	Colistine(10µg)	Colistine (CMI Seulement)		Vancomycine(CMI)	Chloramphénicol(30 µg)
Colistine(CMI)				Teicoplanine(30µg)	Tigécycline ^e (CMI)
Cloramphénicol(30µg)				Rifampicine(5µg)	
Furanes(300µg)				Triméthopri- me+Sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)	
Triméthopri- me+Sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)				Tétracycline ^c (30µg)	
Fosfomycine(200µg)					

Tableau 1:Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries non exigeantes (K.Rahal et al 2014).

ATB testés	Charge des disques (µg)	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8	<p>-La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline.</p> <p>-Les breakpoints des céphalosporines et de l'aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques.</p> <p>Ainsi l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises :céfazoline(2g toutes les 8h), céfoxitine(2g toutes les 6h), céfotaxime(1g toutes les 8h)</p> <p>Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.</p> <p>A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.</p> <p>Pour prédire les résultats des céphalosporines orales quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire , le test de la céfazoline est préféré à celui de la céphalotine.</p>
Amoxicilline+Acide clavulanique	20/10	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4	
Céfazoline	30	≤19	20-22	≥23	≥8	4	≤2	
Céfalotine	30	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8	
Céfoxitine	30	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8	
Céfotaxime	30	≤22	23-25	≥26	≥4	2	≤1	
Céfazoline (infections non compliquées du tractus urinaire)	30	≤14		≥15	≥32		≤16	<p>Les résultats de la céfazoline permettent de prédire les résultats pour les céphalosporines orales:céfaclor, céfdinir, céfpodoxime, céfprozil, céfuroximeaxétil, céphalexine et loracarbef quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire dues à E.coli, K.pneumoniae et P.mirabilis. Céfpodoxime, céfdinir et céfuroximeaxétil peuvent être testées individuellement car certaines souches peuvent être sensibles à ces Atb alors qu'elles sont résistantes à la céfazoline.</p>
Céftazidime	30	≤17	18-20	≥21	≥16	8	≤4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h
Aztréonam	30	≤17	18-20	≥21	≥16	8	≤4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h
Imipénème	10	≤19	20-22	≥23	≥4	2	≤1	<p>Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes:Imipénème: 500mg toutes les 6h et 1g toutes les 8h, Ertapénème: 1g toutes les 24h. La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques.</p>
Ertapénème	10	≤18	19-21	≥22	≥2	1	≤0.5	
Amékacine	30	≤14	15-16	≥17	≥64	32	≤16	
Gentamicine	10	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4	

Acide nalidixique	30	≤13	14-18	≥19	≥32		≤16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'acide nalidixique à l'antibiogramme. Valable pour entérobactéries autres que Salmonella typhi et Salmonella spp. Extra-intestinales.
Ciprofloxacine	5	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1	
Chloramphénicol	30	≤12	13-17	≥18	≥32	16	≤8	Ne pas reporter en routine pour les souches isolées de l'ITU sauf pour les salmonelles. Valable pour S.typhi et Salmonella spp.extra-intestinales.
Colistine	CMI				≥2		≤2	
Furanes	300	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	
Fosfomycine	200	≤12	13-15	≥16	≥256	128	≤64	Indiqué uniquement pour les souches d'E.coli isolées d'infections urinaires. Le disque de 200 µg contient 50µg de glucose-6-phosphate. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose-6-phosphate.
Triméthoprime+Sulfa méthoxazole	1.25/23.75	≤10	11-15	≥16	≥4/76		≤2/38	

Tableau de lecture 1*: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries (K.Rahal et al 2014).

ATB testés	Charge des disques (µg)	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcilline	75	≤15	16-23	≥24	≥128	32-64	≤16	Les valeurs critiques pour la pipéracilline et la ticarcilline (avec ou sans ac.clavulanique) sont basées sur une posologie d'au moins 3g toutes les 6h. Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et d'ATM. L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises. Ceftazidime et Aztréonam : 1g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h.IL est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comités des ATB et CLIN de l'hôpital de ces nouveaux critères d'interprétation. Consulter le clinicien en particulier pour les patients spécifiques.
Ticarcilline+Ac clavulanique	75/10	≤15	16-23	≥24	≥128/2	32/2-64/2	≤16/2	
Pipéracilline	100	≤14	15-20	≥21	≥128	32-64	≤16	
Céftazidime	30	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8	
Aztréonam	30	≤15	16-21	≥22	≥32	16	≤8	
Imipénème	10	≤15	16-18	≥19	≥8	4	≤2	

Amikacine	30	≤14	15-16	≥17	≥64	32	≤16	
Gentamicine	10	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4	
Nétilmicine	30	≤12	13-14	≥15	≥32	16	≤8	
Tobramycine	10	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4	
Ciprofloxacine	5	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1	
Lévofloxacine	5	≤13	14-16	≥17	≥8	4		
Fosfomycine **	---	---	-----	---	---	---	---	Des observations cliniques suggèrent que les infections dues à des souches pour lesquelles la CMI de la Fosfomycine est ≤128mg/ml ECOFF(Epidémiological cut-off value) pourraient être traitées avec de la Fosfomycine.
Colistine	10	≤10	-----	≥11	≥8	4	≤2	

Tableau de lecture 2*: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa* (K.Rahal et al 2014).

ATB testés	Charge des disques (µg)	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarilline	75	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 128	32-64	≤16	Le disque de TCC doit être placé à coté du disque de CAZ. Une synergie entre les deux disques indique la présence d'une EBLSE. Les critères d'interprétation pour l'imipinème sont basés sur la posologie de 500mg toutes les 6h.
Ticarilline+ Ac-clavulanique	75/10	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 128/2	32/2-64/2	≤16/2	
Pipéracilline	100	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤16	
Céftazidime	30	≤ 14	15-17	≥ 18	≥32	16	≤8	
Imipinème	10	≤ 18	19-21	≥ 22	≥8	4	≤2	
Amékacine	30	≤14	15-16	≥ 17	≥64	32	≤16	
Gentamicine	10	≤12	13-14	≥ 15	≥16	8	≤4	
Tobramycine	10	≤12	13-14	≥ 15	≥16	8	≤4	
Nétilmicine	CMI	---	---	---	≥32	16	≤8	
Ciprofloxacine	5	≤15	16-20	≥ 21	≥4	2	≤1	
Lévofloxacine	5	≤13	14-16	≥ 17	≥8	4	≤2	
Doxycycline	30	≤9	10-12	≥ 13	≥16	8	≤4	Si résistance à doxycycline, réponse valable pour tétracycline.
Triméthoprime+sulfaméthoxazole	1.25/23.75	≤10	---	≥ 16	≥4/7 ≥6		≤2/38	
Colistine	CMI	---	---	---	≥4		≤2	La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut déterminer la CMI.

Tableau de lecture 3*: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter spp* (K.Rahal et al 2014).

ATB testés	Charge des disques(μg)	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$)			Commentaires
		R \leq	I	S \geq	R \geq	I	S \leq	
Pénicilline	10 UI	28	-----	29	0.25	-----	0.12	Le test de bêta-lactamase confirme le cas douteux. Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les bêta-lactamases(ampicilline, ticarcilline,pipéracilline...)
Oxacilline (S.aureus et S.lugdunensis)	-----	-----	-----	-----	4	-----	2	Tester le disque de céfoxitine 30 μg pour détecter la résistance à la méticilline de S.aureus et des staphylocoques à coagulase négative.. La résistance à la céfoxitine signifie la résistance à toute la famille des bêta-lactamines. Le disque d'oxacilline n'est pas fiable.Testerle disque de céfoxitine 30 μg pour détecter la résistance à la méticilline de S.aureus et les staphylocoques à coagulase négative.
Céfoxitine(S. Aureus)	30	21	-----	22	8	-----	4	
Oxacilline (S.C.N sauf S.lugdunensis)	-----	-----	-----	-----	0.5	-----	0.25	
Céfoxitine (S.C.N sauf S.lugdunensis)	30	24	-----	25	-----	-----	-----	
Gentamicine	10	12	13-14	15	16	8	4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosidessauf à la ... -La détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détectée avec la Kanamycine.
Kanamycine	30	13	14-17	18	64	32	16	
Amikacine	30	14	15-16	17	64	32	16	
Erythromycine	15	13	14-22	23	8	1-4	0.5	Détecter la résistance inductible en plaçant le disque d'erythromycine à coté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme ;répondre:résistance à erythromycine et clindamycine
Clindamycine	2	14	15-20	21	4	1-2	0.5	
Vancomycine (S.aureus)		-----	-----	-----	16	4-8	2	Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vanco (S) et (I) de Staphylococcus aureus ni de différencier les souches vancoR,I et S de S.C.N car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de vancomycine est obligatoire
Vancomycine (SCN)		-----	-----	-----	32	8-16	4	
Teicoplanine	30	10	11-13	14	32	16	8	

Ofloxacine	5	14	15-17	18	4	2	1	
Ciprofloxacine	5	15	16-20	21	4	2	1	
Lévofloxacine	5	15	16-20	21	4	2	1	
Triméthoprim+ Sulfaméthoxasole	1.25/23.75	10	11-15	16	4/76	-----	2/38	
Rifampicine	5	16	17-19	20	4	2	1	
Tétracycline	30	14	15-18	19	16	8	4	Les souches sensibles à la tétracycline sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Cloramphénicol	30	1	13-17	18	32	16	8	
Quinupristine- dalphopristine	15	15	16-18	19	4	2	1	A reporter pour les souches de S.aureus méthicillino-sensible Interprétation valable pour la pristinamycine
Acide fusidique**	10	24	-----	24	1		1	
Fosfomycine**		-----	-----	-----	32		32	

Tableau de lecture 4*: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp* (K.Rahal et al 2014).

***Détermination de la CMI, technique de dilution en gélose :**

Mode opératoire :

Préparation de la gélose :

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

Préparation des boîtes de dilutions d'antibiotique :

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

-Procéder aux dilutions semi-logarithmiques de raison 2 (de demi en demi), dans l'eau distillée, jusqu'à la concentration finale de 1,25 µg/ml.

Schéma pour la préparation des dilutions d'antibiotique (K. Rahal et al 2014)

Etape	Concentration (µg/ml)	ATB (ml)	Diluant (ml)	Concentration intermédiaire	Concentration finale dans la gélose (µg/ml)
Solution mère	5120	/	/	5120	512
1	5120	2	2	2560	256
2	5120	1	3	1280	128
3	5120	1	7	640	64
4	640	2	2	320	32
5	640	1	3	160	16
6	640	1	7	80	8
7	80	2	2	40	4
8	80	1	3	20	2
9	80	1	7	10	1

10	10	2	2	5	0,5
11	10	1	3	2,5	0,25
12	10	1	7	1,25	0,125

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

-Compléter chaque boîte avec 18 ml de milieu Mueller-Hinton liquéfié et homogénéiser délicatement, sans faire de bulle, le contenu des boîtes par des mouvements circulaires. La dilution obtenue (1/10^{ème}) dans chaque boîte aboutit à une concentration finale allant de 512 µg/ml à 0,125 µg/ml. La gamme de dilution peut être étendue selon les valeurs souhaitées.

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

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

Préparation de l'inoculum bactérien :

-Préparer un inoculum standard à une turbidité de 0,5 MF, ce qui correspond à $1-2 \cdot 10^8$ CFU/ml en moyenne.

-Diluer l'inoculum au 1/10^{ème} en eau physiologique.

Dépôt des spots bactériens :

-Déposer sous forme de spots à la surface de la gélose, 2 µl par spot, de 5 à 8 mm.

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

-Pour chaque boîte ensemercer le témoin positif et le témoin négatif.

-Marquer la boîte de dilution d'antibiotique pour localiser et identifier chaque spot.

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

-Étaler une goutte de chaque souche testée, sur une gélose non sélective et incubé (détection des cultures mixtes, obtention d'une culture jeune).

Incubation :

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

-Renverser les boîtes et incubé à $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ pendant 16-20 heures.

Lecture des CMI :

-Placer les boîtes sur une surface sombre, non réfléchive

-Noter la CMI (la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne visible).

-Ne pas prendre en considération 2 colonies ou un léger film

-Si on note plus de 2 colonies persistantes ou si l'on constate une réapparition de la culture au-delà de la CMI, vérifier la pureté de l'inoculum et refaire le test.

-Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

-Classer la bactérie dans l'une des catégories « sensible, intermédiaire ou résistante ».

***Détermination de la CMI, technique de l'E-Test :**

C'est une technique de détermination de la CMI, validée pour les bactéries non exigeantes et pour un certain nombre de bactéries exigeantes.

Mode opératoire :Préparation de la gélose :

-La gélose Mueller-Hinton fondue au bain-marie a été versée en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4 mm, séchées avant l'emploi.

Préparation de l'inoculum :

Même méthode pour l'antibiogramme standard.

Ensemencement :

Même méthode pour l'antibiogramme standard.

Dépôt de la bandelette E-test :

-Prélever la bandelette à l'aide de pinces bactériologiques préalablement flambées au bec Bunsen ; le contact avec les pinces doit se faire au niveau de l'extrémité marquée E.

-Déposer la bandelette délicatement sur la surface gélosée, en commençant par l'extrémité correspondant aux concentrations les plus faibles de l'antibiotique testé puis en progressant jusqu'aux concentrations les plus élevées. Eviter la formation de bulles d'air entre la gélose et la bandelette, une fois appliquée la bandelette ne peut être déplacée.

-A noter que l'on ne peut déposer qu'une ou deux bandelettes E-test au maximum par boîte de 90 mm de diamètre (risque de chevauchement des ellipses avec plus d'une bandelette).

-Laisser la boîte couvercle en haut pendant 15 mn au plus.

-Incuber à 35-37°C pendant 24h.

Lecture et interprétation :

-La CMI de l'antibiotique testé est lue à l'œil nu, boîte ouverte et bien éclairée.

-Elle correspond à la graduation, située à la jonction entre l'ellipse (dessinée par l'inhibition de la culture bactérienne) et la bandelette E-test.

-Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

-Classer la bactérie dans l'une des catégories « sensible, intermédiaire ou résistante ».

NB : Un contrôle qualité est effectué pour chaque espèce bactérienne testée.

Ce contrôle a pour but de vérifier :

-La précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité.

-La performance des réactifs utilisés dans les tests.

-La performance du personnel qui effectue les tests et la lecture.

Il est pratiqué en moyen d'une fois par semaine à chaque nouveau lot de Mueller Hinton et/ ou d'antibiotique, réalisé pour les souches de références, dans les mêmes conditions de l'antibiogramme standard.

Méthodes automatisées :

	MicroscanWalaway SI	Vitek 2 Compact
Fabricant	Siemens	Biomérieux
Principe	CMI en milieu liquide	CMI en milieu liquide
Normes	CLSI	CLSI
Version du logiciel Expert	Mise à jour régulière	Mises à jour régulières
Groupe des germes ciblés	Entérobactéries BGN non fermentaires Staphylocoques Streptocoques B et entérocoques Pneumocoques et Streptocoques (autres que Streptocoque B) Haemophilus spp	Entérobactéries BGN non fermentaires Staphylocoques Streptocoques B et entérocoques Pneumocoques
Description	Résultats en CMI CMI mesurées Vleurs CMI ne dépendent pas de l'identification Plaque à cupules Ajouts des réactifs biochimiques au niveau de l'appareil Consommables: système d'inoculation et milieux pour antibiogramme Pneumocoque et Haemophilus spp	Résultats en CMI CMI calculées Valeurs de CMI dépendent de l'identification Cartes à micro-cupules Inoculation rapide Pas d'ajout de réactifs
Maintenance	Equipe technique installée en Algérie	Equipe technique installée en Algérie

Tableau : Automates permettant l'identification et la détermination de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries (K.Rahal et al 2014).

Automates	Tests	Utilisation
MicroscanWalkaway SI/Plaques	NID(negative IDentification) PID(positive ID) HIND(Haemophilus Neisseria ID) ANAID(ANAerobi ID) YSTID(YeaST ID) NEG COMBO 53(Negative COMBO) NEG COMBO URINE 52(Negative COMBO) NEG COMBO 54 POS COMBO 31(Positive COMBO) MICroSTREPPPlus(Minimal inhibitory Concentration STREPtococcus plus 1)	Identification des bactéries à Gram négatif Identification des bactéries à Gram positif Identification d'Haemophilus spp et de Neisseria spp Identification des anaérobies Identification des levures Antibiogramme et ID combinée des Entérobactéries Antibiogramme et ID combinée des Entérobactéries isolées d'urine Antibiogramme et ID combinée des BGN non fermentant Antibiogramme et ID combinée des Staphylocoques, Streptocoques B, Entérocoques Antibiogramme et ID combinée des Streptocoques (exceptés Streptocoques B) et Haemophilus spp
Vitek 2 Compact/Cartes	Vitek 2 GN(GramNégative) Vitek 2 GP (Gram Positive) Vitek 2 NH (Neisseria Haemophilus) Vitek 2 ANC(ANAerobi Corynebacterium)	Identification des bactéries à Gram négatif Identification des bactéries à Gram positif Identification d'Haemophilus

	Vitek 2 BCL(BaCILLus) Vitek 2 YST(Yeast)		spp et de Neisseria spp Identification des anaérobies et Corynbactériumspp Identification de Bacillus spp
	Médecine humaine	AST-N233(Antimicrobial Suceptibility Test) AST-N222 AST-P631 AST-P586 AST-P576 AST-XN5	Antibiogramme des Entérobactéries, BGN non fermentant, des Staphylicoques, des Streptocoques B, des Entérocoques et des Pneumocoques
	Médecine vétérinaire	AST-GP69 AST-GN36	Antibiogramme étendu des Entérobactéries(Cartes couplés à la carte AST-N233) Antibiogramme des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Tableau : Liste des tests utilisés en fonction des automates (K.Rahal et al 2014).

ANNEXE II : TESTS COMPLEMENTAIRES POUR SARM :**Screening test à l'oxacilline :****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 (<http://slideplayer.fr/slide/4027488/>).

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 (<http://slideplayer.fr/slide/4027488/>).

Détection de la PLP2a par test d'agglutination :**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.

-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 (<http://jcm.asm.org/content/42/12/5881/F1.expansion.html>).

ANNEXE III : RECHERCHE DE LA RESISTANCE POUR ENTEROBACTERIES :

*Phénotypes de résistance naturelle des entérobactéries :

Groupes	Gr0	Gr1	Gr2	Gr3	Gr4	Gr5	Gr6
Mécanisme de résistance	Sensible	Céphalosporinase de classe C non inducible	Pénicillinase de bas niveau	Céphalosporinase de classe C inducible	Céphalosporinase de classe C et pénicillinase de classe A	Céphalosporinase de classe A inducible	Céphalosporinase de classe A inducible
Entérobactéries	Salmonella spp ; P.mirabilis	E.coli ; Shigella spp	K.pneumoniae ; K.oxytoca ; C.koseri ; C.amalonticus ; S.hermani	E.cloacae ; E.acrogenes ; C.freundii ; M.morganii ; H.Alevi ; P.rettgeri ; P.agglomerans	Yersinia enterocolitica ; Serratia fonticola	P.Vulgaris ; P.peneri	K.ascorba ; K.cryocrescens ; K.Georgina ; R.Aqualitis ; C.Sedlakii ; E.persicina
AminoP	S	S/I	R	R	R	R	R/I→I
AminoP+CLA	S	S/I	S	R	R	S	S/I
CarboxyP	S	S	R	S	R	S	R/I/→I
CarboxyP+CLA	S	S	S→I	S	S	S	S
UrédoP	S	S	S	S	S→I	S	I/S
UrédoP+ TZA	S	S	S	S	S	S	S
C1G	S	S/I	S	R	R	R	R/I
C2G	S	S	S	R/S/I	S	R	R/I/→I
Céfoxitine	S	S	S	R/S/I	S	S	S
C3G	S	S	S	S	S	S	S→I/I
C4G	S	S	S	S	S	S	S→I/I
Carbapénimes	S	S	S	S	S	S	S

Tableau: Groupes d'Entérobactéries selon la résistance naturelle aux bêta-lactamines (A.Philippon et G.Arlet 2012).

S→I: ou I pour S. fonticola, **R:** résistante, **S:** sensible, **I:** intermédiaire, **Gr:** groupe.

Enzymes/Classe A	Béta-lactamase												Synergie	
	AMX	AMC	TIC	TCC	PIP	TAZ	FOX	CTX	CAZ	FEP	ATM	IMP	AC	EDTA
CTX-M	R	S	R	S	R	S	S	R	S	I/R	R	S	+	-
CTX-M mutée	R	S	R	S	R	S	S	R	R	I/R	R	S	+	-
Autre BLSE (Klebsiella)	R	S	R	S	R	S	S	R	S/I/R	S/I/R	S/I/R	S	+	-
Autre BLSE (P.aeruginosa)	R	R	R	I/R	R	I/R	R	R	R	I/R	R	S	+	-
BLSE chromosomique	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	+(CXM)	-

Tableau : Phénotypes de résistance en fonction des différentes BLSE (K.Rahal et al 2014).

*Test d'inhibition par l'acide boronique :

Principe:

Un disque contenant le céfotétan et un autre disque contenant le céfotétan combiné avec l'acide boronique sont placés coté à coté dans une boîte MH ensemencée préalablement par la suspension bactérienne, l'acide boronique va inhiber les céphalosporinases et toute augmentation du diamètre d'inhibition de 5 mm, voire plus, autour du disque de céfotétam associé à l'acide boronique par rapport au disque de céfotétan seul révèle la présence d'AmpC (**K.Rahal et al 2014**).

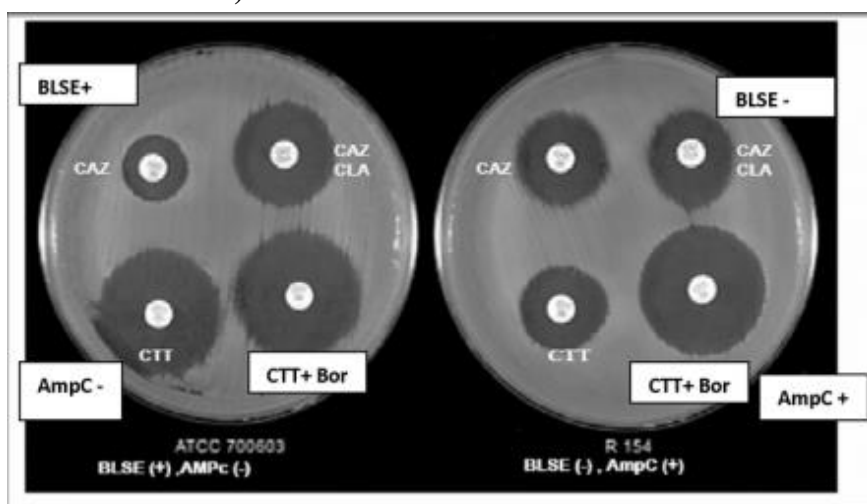


Figure : Comparaison entre le test de confirmation pour les BLSE et le test à l'acide boronique pour la détection des AmpC (**K.Rahal et al 2014**).

A gauche : *K.pneumoniae* ATCC 700603 BLSE (+) AmpC (-).

En haut: L'acide clavulanique restaure l'activité de céftazidime ;

En bas: il n'y a pas de différence significative entre les diamètres d'inhibition autour de céfotétan seul et céfotétan+acideboronique.

A droite : *K.pneumoniae* ATCC R154 BLSE (-) AmpC (+).

En haut: L'acide clavulanique ne restaure pas l'activité de céftazidime;

En bas: L'acide boronique restaure l'activité de céfotétan avec présence d'une image de synergie entre les deux zones d'inhibition.

Technique et lecture:

Préparation des disques contenant une solution d'acide boronique:

-Prendre 120 mg d'acide phenylboronique (benzène boronic acid), le dissoudre dans 3 ml de diméthyle sulfoxyde, ajouter 3 ml d'eau distillé stérile.

-Déposer 20 µl (400 µg) de cette solution dans des disques vierges et des disques contenant du céfotétan (30 µg).

-Les disques sont séchés pendant 30 min à température ambiante

-Ces disques peuvent être utilisés immédiatement ou stockés à +4 ou 70°C (dans un étui sec)

-Ensemencer une boîte de MH avec un inoculum de 0.5 Mc Farland, déposer un disque de céfotétan (30 µg) et un disque de céfotétan (30 µg) + 400 µg d'acide boronique.

-Incuber la boîte 18h à 35°C.

Lecture: Toute augmentation du diamètre d'inhibition de 5mm, voir plus, autour du disque céfotétan associé à l'acide boronique par rapport au disque de céfotétan seul révèle la présence d' AmpC.

***Recherche de céphalosporinase à partir de l'extrait enzymatique :**

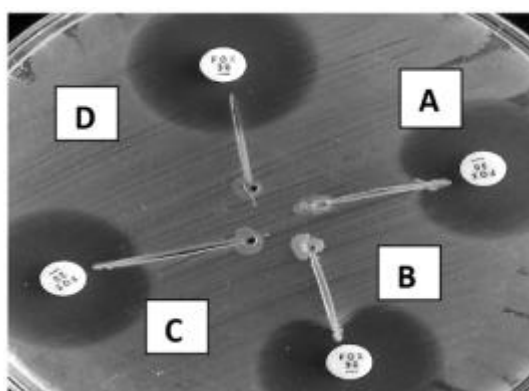
- Travailler à partir d'une culture fraîche de 18 H sur gélose MH ; récupérer la culture dans un tube de centrifugation (10-15 mg) et resuspendre cette culture en eau peptonée, centrifugé à 3000 tr/mn pendant 15 mn.
- Extraction enzymatique :

Le culot de centrifugation va subir 7 étapes de congélation et décongélation entraînant la lyse bactérienne et libérant ainsi les enzymes

- Ensemencer *E. coli* ATCC 25922 sur une boîte de MH, placer 4 disques de céfoxitine 30 µg au niveau des 4 extrémités d'une boîte ronde.
- Au centre de la gélose, à l'aide d'une pipette Pasteur, faire 4 petits puits distants de 5 mm entre eux ; à partir de ces puits, découper à l'aide d'un scalpel stérile 4 petits lignes de gélose de 3 cm de long vers les 4 disques de céfoxitine. S'arrêter à 3 mm du disque.
- Déposer 30 à 40 µl d'extrait enzymatique dans les 4 puits.
- Laisser reposer 5 à 10 min la boîte, incubé 1 nuit à 35°C.

Ce test doit être refait sur une autre boîte après addition dans l'extrait enzymatique d'un disque de 5 µg de cloxacilline incubé à 35°C pendant 30 min.

Puis on dépose cet extrait dans la boîte (**K.Rahal et al 2014**).



La souche A (souche testée) : nette déformation de la zone d'inhibition. Souche B : souche de référence AmpC (+) ; Souche C (souche testée) : faible déformation du diamètre d'inhibition, elle est considérée comme indéterminé ou négatif ; Souche D: souche de référence négative AmpC (-).

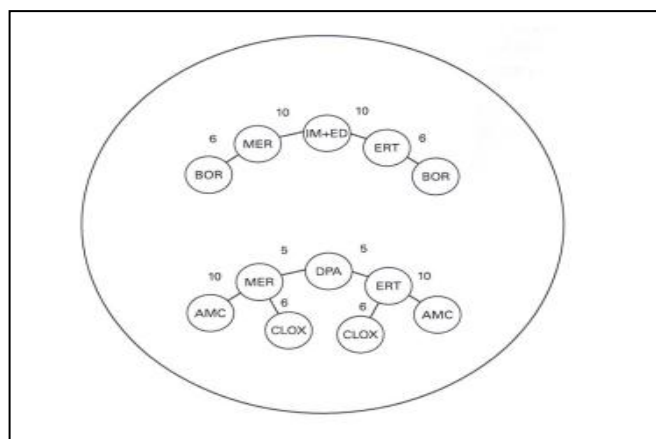
Figure : Recherche de céphalosporinase à partir de l'extrait enzymatique (**K.Rahal et al 2014**).

ANNEXE IV: TEST DE ROSCO :**Le principe :**

C'est un test phénotypique pour la mise en évidence des différents mécanismes de résistance aux carbapénèmes (K. Rahal et al 2014).

La technique :

Des disques contiennent respectivement du méropénème, de l'ertapénème, de l'imipénème plus de l'EDTA, de l'acide dipicolinique (DPA, inhibiteur des enzymes de classe B), de l'acide aminophénylboronique (BOR, inhibiteur des enzymes de classe A), de la cloxacilline (inhibiteur des céphalosporinases hyperproduites) et de l'amoxicilline plus de l'acide clavulanique (inhibiteur des BLSE), sont déposés sur une gélose Muller Hinton sur laquelle a préalablement été ensemencée en culture confluyente une suspension de 0.5 Mc Farland de la souche testée (Figure 5). Le milieu est ensuite incubé à 37° C pendant 18-24 heures (C-G. Giske et al 2011; A. Boutet-dubois et al 2012).



IM+ED : Imipénème+EDTA / MER : Meropénème / ERT : Ertapénème / DPA : Ac.dipicolinique / AMC : Amoxicilline+ Acide clavulanique / CLOX : Cloxacilline / BOR : Ac. Boronique

Figure : Schéma proposé par Rosco pour la détection des carbapénèmases type KPC, Metallo- β -lactamases et Oxacillinases (K. Rahal et al 2014).

La lecture :

- **Metallo- β -lactamases (enzymes classe B)**

Action positive des agents chélateurs: présence d'une zone d'inhibition (ou une zone fantôme) entre les disques DPA et les disques méropénème et/ou ertapénème ou entre le disque imipénème-EDTA et les disques méropénème ou ertapénème.

- **KPC (enzymes classe A)**

Pas d'action des agents chélateurs (pas de zone d'inhibition ou fantôme), synergie entre l'ac. boronique et/ou l'amoxicilline/ Ac. clavulanique et les carbapénèmes (une ou plusieurs). Pas de synergie entre la cloxacilline et les carbapénèmes.

- **Oxacillinases (enzymes classe D)**

Pas d'action des agents chélateurs (pas d'inhibition).

Pas de synergie entre amoxicilline/Ac. clavulanique et les carbapénèmes (K. Rahal et al 2014).

* LE TEST DE HODGE MODIFIÉ :

Le principe:

Ce test est basé sur la mise en évidence d'une synergie d'activité enzymatique entre souches productrices de carbapénèmes (souche à tester) et souches sauvages de référence sensibles (CA-SFM 2012).

La technique :

Un disque d'ertapénème 10 µg (plus indiqué que imipénème) pour les Entérobactéries ou imipénème 10 µg pour *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* est appliqué au centre d'une boîte de MH préalablement ensemencée par écouvillonnage, d'une suspension de 0,5 McFarland diluée au 1/10 d'une souche de référence d'*Escherichia coli* sauvage ATCC 25922 (sensible aux carbapénèmes), afin d'obtenir une culture confluyente et un diamètre dans la zone de sensibilité autour du disque de l'ertapénème.

Les souches à tester et des souches témoins (témoin positif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 productrice de carbapénémase KP-2 et témoin négatif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 non productrice de carbapénémase) sont appliquées sur la gélose sous forme de stries déposées à partir du disque d'ertapénème jusqu'à la périphérie de la boîte sur une longueur d'au moins 20mm. Le milieu est ensuite incubé à 37° C pendant 18-24 heures (A. Boutet-dubois et al 2012 ; L. Dortet et al 2016).

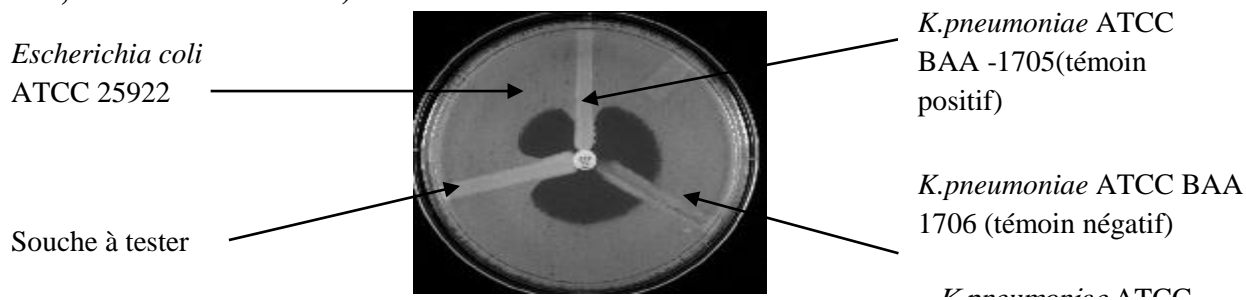


Figure : Test de Hodge modifié (L. Dortet et al 2014).

La lecture :

Le test est interprétable en cas de déformation de la zone d'inhibition de la souche de référence le long de la strie de la souche témoin positif. Si une déformation semblable est observée avec la souche testée suspecte, celle-ci peut-être considérée comme productrice d'une carbapénémase (L. Dortet et al 2016).

ANNEXE V : CLASSIFICATION DES CARBAPENEMASES :

- Les carbapénèmases de Classe A :

Il existe trois carbapénèmases principales qui appartiennent à la classe A de Ambler : les enzymes de types NmcA (non-metallo-carbapenemase A) et IMI (imipenemhydrolysingb-lactamase), celles de type SME (*Serratia marcescens* enzyme) et, majoritairement, celles de type KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase). Toutes ces enzymes possèdent un site actif impliquant une sérine en position 70 et sont capables d'hydrolyser une grande variété de β -lactamines, dont les pénicillines, les céphalosporines, l'aztréonam et les carbapénèmes. Leur activité hydrolytique est partiellement inhibée par les inhibiteurs « classiques » des b-lactamases, comme l'acide clavulanique et le tazobactam. Un quatrième groupe d'enzymes correspondant aux b-lactamases de type GES (Guyana extended-spectrum) comprend quelques représentants possédant une faible activité carbapénèmase (**L. DORTET et al 2013**). Il existe des carbapénèmases de classe A chromosomiques (SME, NMC et IMI) et d'autres de support plasmidique (KPC, GES), Les carbapénèmases de classe A les plus fréquentes et les plus menaçantes, du fait de leur pouvoir de dissémination important sont les KPC (**N. Grall et al 2011**).

- Les métallo-b-lactamases (classe B) :

Les métallo-b-lactamases (MBLs) sont des enzymes dont le site actif fait intervenir un ou deux ions Zn^{2+} . Ces enzymes hydrolysent efficacement la majorité des b-lactamines dont les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénèmes, à l'exception de l'aztréonam. D'autre part, les MBLs sont inhibées par les chélateurs des ions divalents tels que l'EDTA, mais ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ou le tazobactam. Jusque récemment, les MBLs les plus fréquemment identifiées appartenaient à la famille de VIM (Veronaintegron-encoded metallo-b-lactamase) et IMP (imipenemase). Décrites fin 2008, les MBLs de la famille de NDM (New Delhi metallo-b-lactamase) ont largement disséminé dans le monde entier. Les MBLs de type KHM-1 (Kyorin Health Sciences metallo-b-lactamase) et GIM-1 (German imipenemase) ont été décrites beaucoup plus rarement chez les entérobactéries (**L. Dortet et al 2013**).

Les gènes des MBL de type VIM ou IMP peuvent présenter des localisations plasmidiques ou chromosomiques. Ils sont habituellement décrits sous forme de gènes cassettes au sein d'intégrons de classe 1, ou plus rarement de classe 3. L'association de ces intégrons à des structures mobiles de type plasmide ou transposon permet la mobilité de ces gènes de résistance. La présence d'autres gènes cassettes associés au sein de l'intégron, comme des gènes de résistances aux aminosides, ou à d'autres β -lactamines (OXA-30), confèrent à ces souches un important degré de multirésistance. Le gène blaNDM a été retrouvé sur une grande variété de plasmides mais également inséré sur le chromosome bactérien dans quelques cas. Le plus souvent, ce gène se trouve sur un plasmide transférable et en cliniques réarrangements, faisant craindre un fort potentiel de transmission et d'adaptation (**N. Grall et al 2011**).

- Les Oxacillinases (Classe D) :

Les oxacillinases à activité carbapénèmase n'hydrolysent pas ou très peu les céphalosporines à large spectre (céfotaxime, ceftazidime, céfépime) et l'aztréonam, à l'exception du variant OXA-163 dont l'activité carbapénèmase est très réduite (**L. Poirel et al 2011**).

L'activité carbapénémase de ces enzymes est faible, et elle n'est inhibée ni par les inhibiteurs commerciaux de b-lactamases (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam), ni par l'EDTA. En revanche, leur activité carbapénémase peut être inhibée *in vitro* par le NaCl.

La majorité des variants d'oxacillinases à activité carbapénémase ont été identifiés chez *Acinetobacter sp* (OXA-23, OXA-40, OXA-58, OXA-51-like...). En revanche, OXA-48 n'a été décrite que chez les entérobactéries (L. Dortet et al 2013).

Le gène codant pour les oxacillinases est le gène *bla_{OXA}*, localisé au sein d'un transposonplasmoidique comportant deux séquences d'insertion identiques assurant la mobilité et l'expression (P. Nordmann et A. Carrer 2010).

Toutefois, leur présence est souvent couplée à la présence d'une β -lactamase à spectre étendu (BLSE), ce qui conduit à une multirésistance des souches sécrétrices (N. Grall et al 2011 ; G. Cuzon et al 2010).

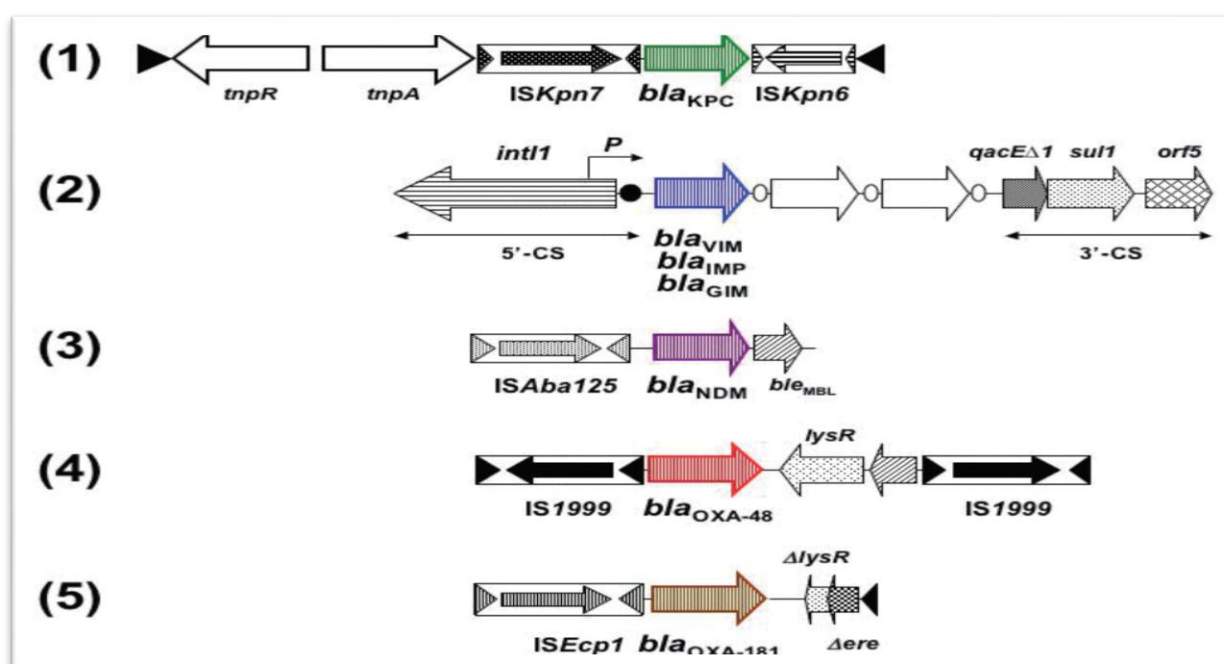


Figure : Représentations schématiques des environnements génétiques des gènes codant pour les carbapénémases les plus fréquentes (*bla_{KPC}*, *bla_{VIM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{GIM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-181}*) (L. Dortet et al 2013).

*LES MILIEUX CHROMOGENES DES EPC:

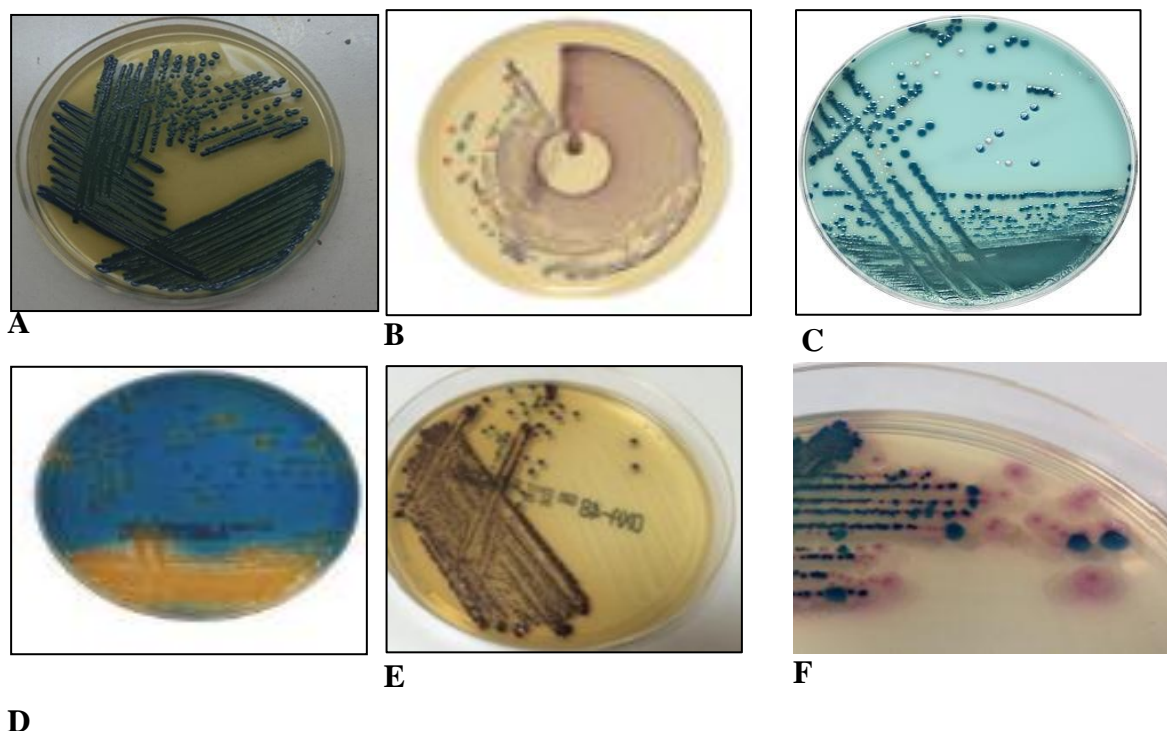


Figure: Les milieux chromogènes des EPC.

A : milieu CHROMagar™ KPC (M.Validi et al 2016). **B :** milieu ChromIDRCarba (bioMerieux). **C :** Brilliance CRE (Oxoid). **D :** milieu mSuperCARBA™ (CHROMagar) (L.Dortet et al 2016). **E :** milieu ChromIDR OXA-48 (bioMerieux). **F :** ChromIDR CARBA smart (biomerieux) (J-D.Perry 2017).

- **CHROMagar™ KPC :**

Ce milieu contient du méropénème à de fortes concentrations et des chromogènes facilitant l'identification rapide des espèces bactériennes. Il en résulte une détection médiocre des EPC présentant de bas niveaux de résistance aux carbapénèmes (notamment OXA-48).

En tenant compte de l'épidémiologie française des EPC, ce milieu n'est PAS recommandé pour le dépistage des EPC (gène OXA-48 retrouvé en France plus que KPC)(L. Dortet et al 2016).

- **ChromIDRCarba (bioMerieux) et BrillianceR CRE (Oxoid) :**

Ces deux milieux contiennent un carbapénème et des chromogènes facilitant l'identification rapide des espèces bactériennes d'entérobactéries. Les études réalisées avec ces deux milieux ont montré de bonnes sensibilité et spécificité pour la détection des EPC, hormis pour certaines souches productrices d'OXA-48 (L. Dortet et al 2016).

Remarque : Ces deux milieux sont donc recommandés pour la détection des EPC en complément d'un milieu additionnel possédant une meilleure sensibilité de détection des entérobactéries productrices d'OXA-48 (L. Dortet et al 2016).

- **mSuperCARBA™ (CHROMagar) ou SUPERCARBA medium « maison »**

Le SUPERCARBA medium a été mis au point par le CNR de la résistance aux antibiotiques spécifiquement pour la détection des EPC. Ce milieu « maison » possède une très bonne sensibilité de détection vis-à-vis de tous les types d'EPC notamment les souches productrices d'OXA-48. Il contient de l'ertapenème (0,25 mg/L), du sulfate de zinc (70 mg/L) et de la cloxacilline (250 mg/L). (**L. Dortet et al 2016**).

Ce milieu « maison » a été adopté par la société CHROMagar qui y a incorporé des chromogènes. Jusqu'à récemment, ce milieu de culture devait être préparé par le laboratoire de bactériologie. Depuis fin 2017, le milieu mSuperCARBA™ est vendu directement pré-coulé par la société CHROMagar (**Y. Hoyos-Mallecot et al 2017**).

- **ChromIDR OXA-48 (bioMérieux)**

La gélose ChromIDROXA-48 est un milieu chromogène sélectif destiné au dépistage des entérobactéries productrices de carbapénémase de type OXA-48 (**D Girlich et al 2013**).

Ce milieu possédant une bonne sensibilité pour la détection des souches productrices d'OXA-48, une sensibilité médiocre pour la détection des EPC produisant une autre carbapénémase qu'OXA-48 (KPC, NDM, VIM ou IMP) (**L. Dortet et al 2016**).

Remarque :

Ce milieu est recommandé pour la détection des EPC en complément d'un milieu additionnel possédant une bonne sensibilité de détection des entérobactéries productrices de carbapénémase autre que OXA-48 (ChromIDRCarba, BrillianceRCRE) ou en cas de dépistage lors d'une épidémie connue avec une souche productrice d'une carbapénémase de type OXA-48 (**L. Dortet et al 2016**).

- **ChromIDR CARBA SMART (bioMérieux) :**

La gélose ChromIDRCARBA SMART est un milieu sélectif chromogène bi-plate destiné au dépistage de toutes les entérobactéries productrices de carbapénémase.

La moitié de la gélose correspond à la gélose ChromIDR-CARBA, l'autre moitié correspond à la gélose ChromIDR-OXA-48.

Milieu commercial chromogène possédant une bonne sensibilité pour la détection des souches productrices de carbapénémase quel que soit le type de carbapénémase (**L. Dortet et al 2016**).

- Inconvénient :

Les souches productrices de carbapénémase OXA-244 peuvent ne pas cultiver sur ce milieu (**P. Nordmann et al 2012**).

*SUPPORT GENETIQUE DE LA RESISTANCE DES ENTEROCOQUES AUX GLYCOPEPTIDES :

• Génotype VanA :

Le prototype de l'élément génétique vanA est le transposon Tn1546 (de 11 kb) porté par des plasmides autotransférables, ce transposon code pour 9 gènes (*vanA*, *vanH*, *vanR*, *vanS*, *vanX*, *vanY*, *vanZ*, ORF1 et ORF2) qui eux même codent pour 9 polypeptides (**Figure1**) (**P. Courvalin 2005, J-C. Quincampoix et J-L. Mainardi 2001**).

Les neuf polypeptides interviennent dans le mécanisme de la résistance. Les polypeptides codés par les gènes *vanR* et *vanS* interviennent dans la régulation de l'expression de la résistance, l'expression coordonnée de *vanH*, *vanA* et *vanX* est nécessaire au mécanisme de résistance (**N. Bourgeois-Nicomas et al 2005**).

Le gène *vanH* code pour une déshydrogénase qui réduit le pyruvate présent de la bactérie en D-lactate, le gène *vanA* code pour une ligase qui synthétise un dipeptide terminal anormal (D-alanyl-D-lactate) de faible affinité pour les glycopeptides alors que le gène *vanX* code pour une dipeptase qui hydrolyse le dipeptide D-ala-D-ala synthétisé par la ligase D-ala-D-ala de la bactérie

Les gènes *vanY* et *vanZ* sont accessoires alors que ORF1 et ORF2, deux gènes codant pour une transposase et une résolvasse qui sont responsables des mouvements du transposon dans le génome bactérien (**Figure 1**).

Le mécanisme génétique de la résistance fonctionne sur un mode récessif et l'expression des gènes *van* est induite par des concentrations subinhibitrices de glycopeptides (**M. Arthus et R. Quintiliani 2001 ; Y. Gholizadeh et P. Courvalin 2000**).

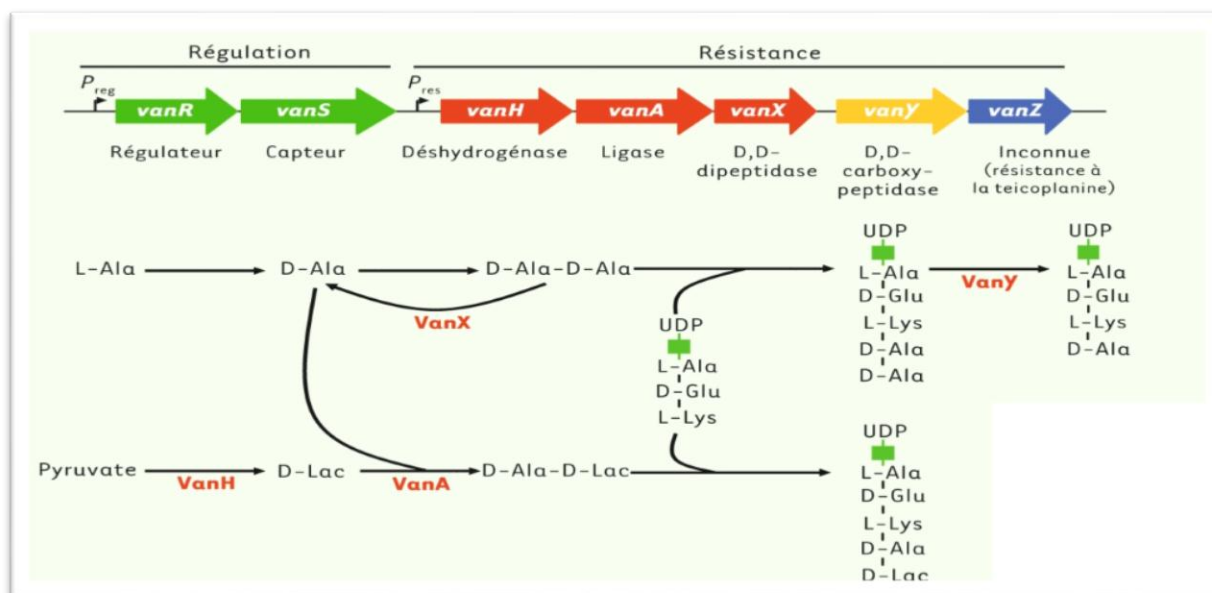


Figure: Résistance de type VanA. (V. Cattoir et R. Leclercq 2010)

-Génotype vanB:

Le *vanB* est le deuxième type de résistance aux glycopeptides après le *vanA*, observé chez *E. faecalis* et *E. faecium*, les gènes *vanB* sont associés aux grands transposons (Tn 1547, Tn1549, Tn5382, Tn916) qui sont souvent chromosomiques, mais qui peuvent être

plasmidiques (F. Depardieu et al 2005). Ils sont autotransférables par conjugaison (R. Quintiliani et P. Courvalin 2006)

La résistance acquise du type vanB est due à la synthèse de précurseurs de peptidoglycane se terminent par le depsipeptide D-ala-D-lac au lieu du dipeptide D-ala-D-ala. L'organisation et la fonctionnalité du gène vanB est semblable à celui du gène vanA mais diffère dans sa régulation, car la vancomycine mais pas la téicoplanine est un indicateur du groupe vanB.

L'opéron vanB contient des gènes de résistance (vanY_B, vanW, vanH_B, vanB, vanX_B) et des gènes régulateurs (vanR_B et vanS_B) (P. Courvalin 2006).

Sur la base des différences de séquence, le groupe de gènes vanB peut être divisé en 3 sous-types : vanB1, VanB2 et vanB3. Il n'y a pas de corrélation entre le sous-type vanB et le niveau de résistance à la vancomycine (F. Patel et al 1998 ; P. Courvalin 2006 ; S. Evers et P. Courvalin 1996).

-Génotype vanD:

La résistance acquise de type D est due à la production constitutive de précurseurs de peptidoglycane se terminant par D-ala-D-lac (F. Depardieu et al 2004). L'organisation de l'opéron vanD, qui se trouve exclusivement dans le chromosome est similaire à celle du vanA et vanB. Cependant, aucun gène homologue à vanZ ou vanW des opérons vanA et vanB, respectivement, n'est présent (P. Courvalin 2006).

La résistance est constitutive et n'est pas transférable par conjugaison à d'autres entérocoques. Les souches de type vanD ont une activité DD-dipeptidase négligeable, ce qui devrait conduire à un phénotype sensible, car ces bactéries sont incapables d'éliminer les précurseurs de peptidoglycane se terminant en D-ala-D-ala, qui est la cible pour les glycopeptides.

Une caractéristique inhabituelle des souches de type vanD est leur seule susceptibilité légèrement diminuée à la téicoplanine (F. Depardieu et al 2005)

-Génotype vanC :

La résistance naturelle de type vanC est due à la production de précurseurs de peptidoglycane se terminant par D-ala-D-serine. Trois gènes vanC de localisation chromosomique (non transférable), exprimés de manière constitutive ou induite, codant pour les ligases D-ala-D-ser ont été décrits, vanC1 chez *E. gallinarum*, vanC2 chez *E. casseliflavus* et vanC3 chez *E. flavescens*. L'organisation de l'opéron vanC, est distincte de ceux de vanA, vanB et vanD (P. Courvalin 2006).

*** PHENOTYPES DE RESISTANCE DES ENTEROCOQUES AUX GLYCOPEPTIDES :**

Les génotypes de résistance aux glycopeptides vanA, vanB, vanD et vanC correspondent respectivement aux phénotypes VanA, VanB, VanD et VanC.

- **Phénotype Van A:** est le phénotype le plus fréquemment retrouvé chez les Entérocoques, décrit chez *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* ainsi que chez de nombreuses autres espèces d'Entérocoques, présente un haut niveau de résistance inductible à la vancomycine (CMI > 64 mg /1) et à la téicoplanine (CMI > 16 mg/1) (V. Cattoir et R. Leclercq 2010 ; S. Dutka-malen et P. Courvalin 1994).

- **Phénotype Van B :** ce phénotype de résistance acquise, est constitué de souches d'*E. faecalis* et d'*E. faecium* résistantes de façon inductible à la vancomycine avec des CMI très

variables (CMI = 4–1 000 µg/ml) mais qui demeurent sensibles à la teicoplanine (CMI = 0,5–1 µg/ml) (V. Cattoir et R. Leclercq 2010 ; R. Quintiliani et al 1993).

- **Phénotype Van D** : décrit chez *E. faecium* et *E. faecalis*, le phénotype Van D a une résistance constitutive à la vancomycine (CMI = 64µg/ml) et une résistance de bas niveau à la teicoplanine CMI de 4 µg/ml. Il ne présente pas de risque écologique (B. Perichon et al 1997).

- **Phénotype Van C** : les trois phénotypes VanC1, VanC2, VanC3 présentent un bas niveau de résistance à la vancomycine avec des CMI entre 2 et 32 µg/ml et restent sensibles à la teicoplanine CMI égale à 0.5–1 µg/ml (J-C. Quinampoix et J-L. Mainardi 2001).

ANNEXE VI : APPAREILLAGE



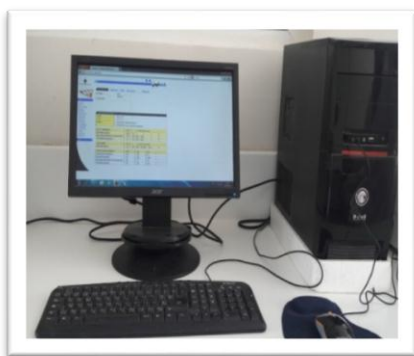
Séchoir



Etuve à 35-37°C



Densitomè



Ordinateur



Bain marie



Balance



Réfrigérateur



Microscope optique




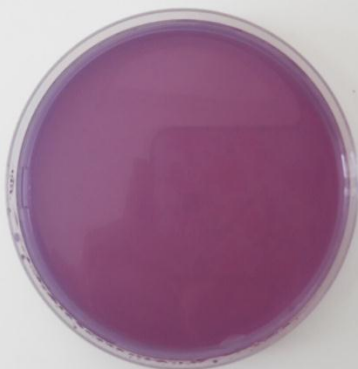

Bec bunsen





***MATÉRIEL NON BIOLOGIQUE**


Fournitures	
Blouse de laboratoire	Huile de vaseline stérile
Bocal	Liquide désinfectant
Bougie	Marqueurs
Briquet	Pied à coulisse métallique
Distributeur de disques d'antibiotique	Pinces
Eau physiologique stérile	Poires
Eau distillée stérile	Portoirs pour tubes
Eau oxygénée	Seringues stériles
Ecouvillons sec stériles	Solution hydro-alcoolique
Gants	Huile à l'immersion

Verrerie
Boîte de pétri (90mm de diamètre) en plastique
Lames et lamelles
Tubes à essais stériles
Tubes sec
Pipettes pasteurs stériles

MILIEUX DE CULTURE, COLORANTS ET REACTIFS D'IDENTIFICATION*MILIEUX DE CULTURE :**

Milieu	Composition	Utilisation
<p style="text-align: center;">Gélose nutritive</p> 	<p>-Extrait de viande.....1 g -Extrait de levure.....2.5 g -Peptone.....5 g -Chlorure de sodium.....5 g -Agar.....15 g</p> <p style="text-align: center;">PH=7.0</p>	<p style="text-align: center;">Milieu d'isolement des bactéries non exigeantes</p>
<p style="text-align: center;">BCP (pourpre de bromocrésol)</p> 	<p>-Peptone.....5g -Extrait de viande de bœuf.....3g -Lactose.....10g -Pourpre de bromocrésol.....25 mg -Agar.....15 g</p> <p style="text-align: center;">PH = 6,8</p>	<p style="text-align: center;">Milieu sélectif des BGN</p>
<p style="text-align: center;">Gélose au sang frais</p> 	<p>-Mélange spécial de peptone....23 g -Amidon.....1 g -NaCl.....5 g -Agar.....10 g -Sang de mouton.....50 ml</p> <p style="text-align: center;">PH=7.3</p>	<p style="text-align: center;">Milieu d'isolement des Streptocoques</p>

<p>Milieu TSI (triple sugariron)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Peptones de caséine15g -Peptones de viande.....5g - Extraits de viande.....3g - Peptones de levure.....3g - NaCl.....5g - Lactose.....10g - Saccharose.....10g - Glucose.....1g - Citrate ammoniacal de Fer (III)..0.5g - Thiosulfate de sodium.....0.5g - Rouge de phénol.....0.024g - Agar.....12g 	<p>l'identification des Entérobactéries (réduction de sulfate)</p>
<p>MEVAG (Milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Macération de viande (1 kg / l) 25ml - Chlorure de sodium.....5.2 - Agar.....3.12 - Rouge de phénol.....0.035 	<p>Mise en évidence de la voie d'attaque du glucose</p>
<p>Eau peptonée exempte d'indole</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Peptone exempte d'indole10 g -Chlorure de sodium.....5g <p style="text-align: center;">PH = 7,2</p>	<p>Production d'indole par les Entérobactéries</p>
<p>Citrate de Simmons</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Citrate de sodium.....1g -Bleu de bromothymol.....0.08g -Chlorure de sodium.....5.0g -Sulfate de magnésium.....0.2g -Hydrogénophosphate de potassium..1g -Dihydrogénophosphate d'ammonium1g -Agar-agar.....15g <p style="text-align: center;">PH= 6,9</p>	<p>Mise en évidence des Entérobactéries possédantes une enzyme citrate perméase</p>

Clark et lubs 	- Peptone..... 5 g - Glucose..... 5 g - Hydrogénophosphate de potassium 5 g - Eau distillée 1 l <p style="text-align: center;">PH= 7.5</p>	Mise en évidence des voies fermentaires des Entérobactéries
---	---	---

***COLORANTS :**

- Violet de gentiane
- Lugol
- Fuschine
- Alcool éthylique 95°

REACTIFS D'IDENTIFICATION :

Réactif	Composition	Utilisation
KOVACS	-P-diméthylaminobenzaldéhyde... 5 g - Alcool iso-amylque.....75 ml - Acide chlorhydrique pur.....25 ml	Mise en évidence de la production d'indole
NIN	- Ninhydrine - 2-méthoxyéthanol	Mise en évidence de l'hydrolyse d'acide hippurique
VP I	-Naphtol.....60 g -Ethanol.....1 cm ³	Recherche de l'acétoïne
VP II	-Solution aqueuse d'hydroxyde de potassium 4 ml.cm ³ (10%)	Recherche de l'acétoïne
ZYM A	-Tris(Tris) Hydroxy-méthyl-amino-méthane -Lauryl sulfate -HCl	/
ZYM B	-Fast blue BB -2-méthoxy-éthanol	/

TAIBI ZOHRA

zahrataibi01@gmail.com

BENNILI ZINEB

zinebpharm4@gmail.com

RESUME

Les services de réanimation « épicerie de la résistance aux antibiotiques », sont le lieu où les infections à bactéries multirésistantes sont les plus fréquentes, malgré les mesures de prévention en vigueur .

Le présent travail est une étude rétrospective sur une durée de quatre années (Janvier 2016-Décembre 2019), réalisée dans l'unité de réanimation du service des UMC du CHU de Blida, portant sur l'ensemble des BMR et des BHRe isolées, afin de voir l'évolution du taux de ces bactéries, d'évaluer leur implication en pathologie et d'étudier leur mécanisme de résistance aux antibiotiques .

*Nous avons recensé 1451 souches bactériennes provenant de différents prélèvements, parmi ces souches, 618 étaient des BMR soit un taux de 42.59%. Les Entérobactéries résistantes aux C3G sont les BMR prédominantes avec un taux de 51,78%, suivi de l'*A.baumannii* avec un taux de 37.86%. Les BMR proviennent essentiellement des prélèvements distaux protégés avec un taux de 39.31%(228/580)*

*Durant la période de l'étude, 52 BHRe ont été isolées, dont 47 Entérobactéries productrices de carbapénémases et 05 Entérocoques résistants aux glycopeptides. L'espèce d'Entérobactéries productrice de carbapénémases la plus rencontrée est *K.pneumoniae*, et l'espèce d'Entérocoques résistant aux glycopeptides la plus fréquente est *E.faecium* .*

L'isolement des BMR / BHRe représente une réelle menace au niveau des services de réanimation à cause de la difficulté d'éradication de ces bactéries une fois disséminées .

Il est nécessaire et urgent de prendre des mesures préventives et organisationnelles en priorité une surveillance stricte et continue, une vigilance des différents intervenants, un respect des règles de prescription des antibiotiques, et un renforcement des mesures d'hygiène .

Mots clés : BMR, BHRe, Antibiorésistance, Réanimation , Prévention .

ABSTRACT

The intensive care unit, the "epicentre of antibiotic resistance", is the place where infections with multi-resistant bacteria are the most frequent, despite the preventive measures in place .

The present work is a retrospective study over a period of four years (January 2016-December 2019), carried out in the resuscitation unit of the UMC department of the Blida University Hospital, covering all BMR and isolated BHRe, in order to see the evolution of the rate of these bacteria, to evaluate their involvement in pathology and to study their mechanism of antibiotic resistance.

We have identified 1451 bacterial strains from different samples, among these strains, 618 were BMR, a rate of 42.59%.

*C3G-resistant Enterobacteriaceae are the predominant BMR with a rate of 51.78%, followed by *A.baumannii* with a rate of 37.86% .*

RBM are mainly from protected distal swabs with a rate of 39.31% (228/580).

*During the study period, 52 BHRe were isolated, including 47 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and 05 glycopeptide-resistant Enterococci. The most common carbapenemase-producing Enterobacteriaceae species is *K.pneumoniae*, and the most common glycopeptide-resistant Enterococci species is *E.faecium* .*

The isolation of BMR / BHRe represents a real threat to resuscitation services because of the difficulty of eradicating these bacteria once they have spread

It is necessary and urgent to take preventive and organizational measures as a matter of priority: strict and continuous surveillance, vigilance of the various parties involved, compliance with antibiotic prescription rules, and reinforcement of hygiene measures.

Keywords: BMR, BHRe, Antibiotic resistance, Resuscitation, Prevention