

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'enseignement  
supérieur et de la recherche  
scientifique

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université de MOULOU  
MAMMERI  
FACULTE DE MEDECINE  
TIZI OUZOU  
Département de pharmacie



جامعة مولود معمري  
كلية الطب  
فرع الصيدلة  
تيزي وزو

N °D'ORDRE:/DP /..... / 2019

## Projet de fin d'études.

Présenté et soutenu publiquement

Le : 01 juillet 2019

En vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie.

### Thème

**Germes isolés en hémocultures et leurs résistances  
aux antibiotiques durant l'année 2018.**

Réalisé par :

Mlle KOUSSA WISSEM

Mlle KERMIA LAMIA

Mlle IZOUINE FATIHA

Encadré par : Docteur **CHERIFI L.**, médecin assistante en microbiologie.

Composition du jury :

**Dr Toudert**

**Maitre assistant en immunologie**

**Président de jury**

**Dr Cherifi**

**Assistante en microbiologie**

**Promotrice**

**Dr Chenafi**

**Assistante en microbiologie**

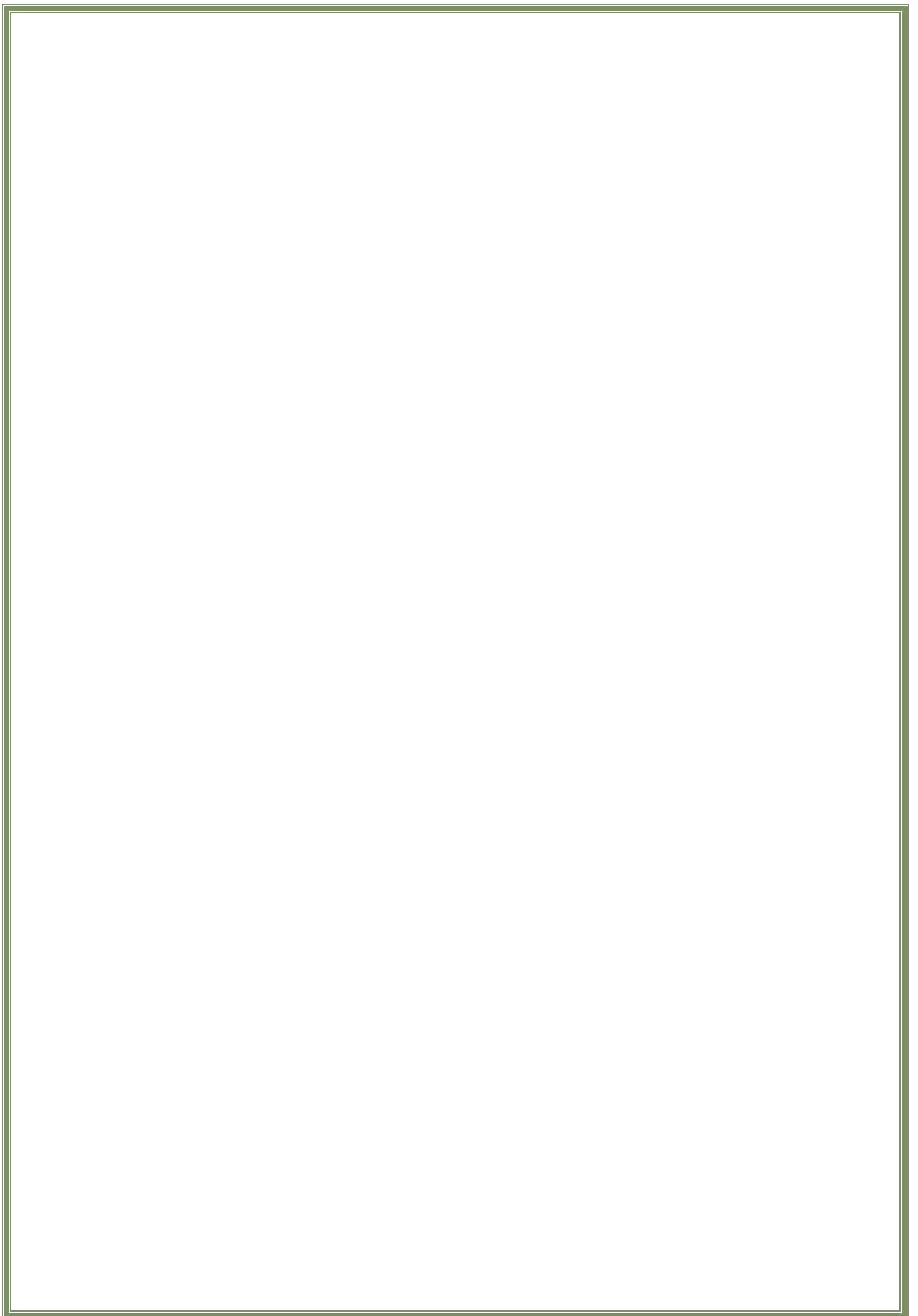
**Examinatrice**

**Dr Amirat**

**Maitre assistante en biologie clinique**

**Examinatrice**

Promotion : 2018/2019.



## *Table des matières*

---

### **Liste des abréviations**

### **Liste des tableaux**

### **Liste des figures**

### **Sommaire**

### **Introduction .....1**

### **Objectifs .....2**

### **Partie théorique.**

#### **Chapitre I : Généralités.**

1. Historique.....	3
2. Notion de base sur les bactéries.....	3
2.1 Définition de la bactérie.....	3
2.2 Anatomie bactérienne.....	4
3 . Génétique bactérienne .....	5
3.1 Définition de la génétique.....	5
3.2 Variation génétique.....	6
3.3 La mutation.....	6
3.4 Transfert du matériel génétique.....	7
4 Rappel physiopathologique de la septicémie.....	9
4.1 Définition de la septicémie ou sepsis.....	9
4.2 Définition de la bactériémie.....	9
4.3 Septicémie thrombophlébétique.....	9
4.4 Septicémie à point de départ lymphatique.....	10
4.5 Septicémie endocardique.....	10
4.6 Autres scénarios physiopathologiques.....	10
5 Les principaux germes responsables de septicémies.....	11
5.1 Les Cocci à Gram Positif.....	11
5.2 Les Bacilles à Gram Négatif.....	12
6 Quelques résistances naturelles aux antibiotiques.....	13

#### **Chapitre II : Hémoculture.**

1. Définition de l'hémoculture .....	14
2. Objectifs et indications de l'hémoculture.....	14
2.1. Objectifs de l'hémoculture .....	14
2.2. Indications de l'hémoculture .....	14
3. Réalisation du prélèvement pour une hémoculture .....	15
3.1. Le moment de prélèvement.....	15

## *Table des matières*

---

3.2. Les principaux sites de prélèvement.....	15
3.3. L'antiseptie.....	15
3.4. Les règles à respecter lors du prélèvement.....	16
3.5. Le volume de sang à prélever par hémoculture.....	16
3.6. Nombre de flacon.....	16
3.7. Type des flacons disponibles.....	16
3.8. Etiquetage, fiche des renseignements cliniques et transport du prélèvement.....	17
3.9. Milieux de cultures servant aux prélèvements et à la mise en culture.....	18
4. La démarche du diagnostique.....	18
4.1. Durée et conditions d'incubation.....	18
4.2. Détection de la croissance bactérienne.....	19
4.2.1. Examen macroscopique.....	19
4.2.2. Examen microscopique .....	19
4.3. Repiquage et isolement.....	20
4.4. Identification des bactéries isolées .....	20
4.4.1. Aspect macroscopique des bactéries .....	20
4.4.2. Tests d'orientations.....	20
4.4.3. Identification biochimique « Galerie biochimique ».....	20
4.4.4. Automate VITEK d'identification bactérienne .....	21
4.4.5. Tests de la sensibilité aux antibiotiques : Antibiogramme.....	21
4.4.6. Tests complémentaires .....	21
5. Lecture et interprétation des résultats.....	21
6. Les principaux germes isolés en hémoculture.....	23

### **Chapitre III : *La résistance bactérienne aux antibiotiques.***

1. Historique.....	24
2. Généralités sur les antibiotiques.....	24
2.1. Définition d'un antibiotique.....	24
2.2. Classification des antibiotiques.....	24
2.3. Mode d'action des antibiotiques.....	25
2.4. CMI/ CMB.....	26
2.5. Propriétés PK/PD des antibiotiques .....	26
3. Résistance bactérienne aux antibiotiques .....	28
3.1. Définition de la résistance.....	28
4. Type de résistance.....	28
4.1. Résistance naturelle.....	28
4.2. Résistance acquise.....	28
5. Les mécanismes de résistance.....	28
5.1. Résistance chromosomique.....	28
5.2. Résistance extra-chromosomique.....	29
5.3. Les mécanismes biochimiques de la résistance.....	29
5.3.1. Modification de la cible des antibiotiques.....	30
5.3.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	30

## Table des matières

5.3.3. L'imperméabilité .....	33
5.3.4. Efflux des antibiotiques .....	34
5.4. Autres types de résistance.....	34
5.4.1. Résistance croisée .....	34
5.4.2. Co-résistance.....	35
5.4.3. Co-sélection .....	35
5.5. Les multi-résistance. ....	35
6. Facteurs responsables de l'augmentation de la résistance aux antibiotiques.....	37

### Partie pratique

#### Matériels et Méthodes.

1. Méthodes de l'étude.....	38
1.1. Type de l'étude.....	38
1.1.1. Les variables recueillies .....	38
1.1.2. Les critères d'inclusion .....	38
1.1.3. Les critères d'exclusion .....	38
1.2. Objectifs de l'étude statistique.....	38
2. Matériels de l'étude.....	39
2.1. Les registres des hémocultures .....	39
2.2. Le logiciel WHONET.....	39
2.2.1. Présentation de WHONET.....	39
2.2.2. Les principaux objectifs du logiciel .....	40
2.2.3. Les avantages de WHONET.....	40
2.2.4. Les applications de WHONET.....	40

#### Résultats

1. Résultats de l'étude des hémocultures positives et négatives.....	41
1.1. Comparaison de nombre des hémocultures positives par rapport aux autres examens microbiologiques réalisés au laboratoire .....	41
1.2. Nombre des hémocultures positives et négatives au niveau du laboratoire .....	41
1.3. Répartition des hémocultures positives selon le sexe .....	41
1.4. Répartition des hémocultures positives selon l'âge.....	42
1.5. Répartition des hémocultures positives selon les services .....	43
2. Fréquence d'isolement des bactéries Gram négatif et Gram positif.....	45
3. Résultats des résistances aux antibiotiques .....	47
3.1. Résistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	47
3.2. Résistance des souches d' <i>Escherichia coli</i> .....	49
3.3. Résistance des souches d' <i>Enterobacter cloacae</i> .....	50
3.4. Résistance des souches de <i>Serratia marcescens</i> .....	52
3.5. Résistance des souches de <i>Proteus sp</i> .....	53
3.6. Résistance des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	55
3.7. Résistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	56

## *Table des matières*

---

3.8. Résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	57
3.9. Résistance des souches de <i>Staphylococcus</i> à <i>coagulase négative</i> .....	59
3.10. Résistance des souches d' <i>Enterococcus faecalis</i> .....	60
3.11. Résistance des souches d' <i>Enterococcus faecium</i> .....	62
3.12. Résistance des souches de <i>Streptococcus sp</i> .....	63
3.13. Résistance des souches de <i>Salmonella sp</i> .....	64
4. Nombres et pourcentages des betalactamases à spectre étendu BLSE.....	66
5. Nombres et pourcentages des <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline SARM....	67
6. Résultats comparatifs des résistances des germes les plus fréquents aux antibiotiques avec les deux années précédentes.....	68
<b>Discussion.....</b>	<b>73</b>
<b>Conclusion et recommandation.....</b>	<b>79</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexe</b>	
<b>Résumé.</b>	



## Remerciement

*A notre Maître et Rapporteur de thèse, Madame  
Dr Cherifi Lynda, Professeur de Microbiologie*

*En acceptant de diriger ce travail, vous nous avez signifié par la même occasion votre confiance. Femme de science réputée et admirée par tous, nous avons été très impressionnées par votre simplicité, votre grande disponibilité et votre amour du travail bien fait. Nous avons été également comblés par les enseignements de qualité dont nous avons bénéficiés à vos côtés ; vos qualités intellectuelles et vos connaissances larges et toujours d'actualité font de vous un modèle de maître souhaité par tout élève. Cher maître, veuillez accepter nos sincères remerciements.*

*Nos vifs remerciements pour les membres du jury, à commencer par Dr.Toudert qui nous a fait l'honneur de présider notre jury. A Dr.Amirate et Dr.Chenafi d'avoir accepter d'examiner ce modeste travail.*

## Dédicace

*A mon papa Ali, ma maman Fatíha,*

*Mes anges gardiens qui donnent du sens à ma vie.*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez, pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Allah, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mes chers sœurs Fairouz, Siham, Imane et cher frère Adel*

*En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Je vous remercie pour votre soutien durant les moments difficiles, et votre présence pendant mes moments de joie.*

*A mes adorables nièces Rym, Manel et mon neveu Mehdi : la joie de ma vie.*

*A ma grande famille : Je tiens à remercier mes chères cousines Nabila, et Yasmine avec qui j'ai partagé les moments stressants des études, je vous souhaite beaucoup de bonheur et de réussite le long de votre vie.*

*mes amis Ines, Lamia, Fatíha : je remercie surtout Anissa. Que ALLAH vous protège et vous procure joie et bonheur, et que notre amitié reste à jamais.*

*Wissem*



## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire :*

*A mes chers parents ma mère et mon père*

*Pour leur patience, leur amour leur soutien et leurs prières,*

*A ma sœur Amina et mon frère Ahmed qui ont toujours été à mes cotés,*

*A toute ma famille et mes amies, chacun en son nom,*

*Pour ceux qui nous ont aidés à réaliser ce mémoire, de près ou de loin,*

*Très sincèrement et du plus profond du cœur je vous dédie mon mémoire,  
et j'espère vous avoir honoré.*

*Fatíha*



## *Dédicace*

*A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donnée un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*

*«Que Dieu puisse m'aider à les honorer, les servir et les combler» ;*

*;A ma sœur MERIEM et mes frères AMINE, NABIL et ABDELWAHLAB qui ont été toujours à mes cotés pour m'aider, me soutenir et m'encourager ;*

*A mes chères amies WISSEM, FATIHA, IMANE, qui ont toujours cru en moi et m'ont incitée à croire à la réussite ;*

*A toute la famille KERMIJA pour leur aide et leur soutien moral durant l'élaboration de ce mémoire de fin d'étude ;*

*A toute personne ayant apporté son aide et ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire*

*A tous ceux qui m'aiment et que j'aime ;*

*Je dédie ce travail*

*Lamia*

## *Liste des abréviations*

---

### **LISTE DES ABREVIATIONS**

AARN : Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ATB : Antibiotique

BLSE : Bêta-Lactamase à Spectre Etendu

BMR : Bactéries multi résistantes

BGN : Bactérie Gram négative

BGP : Bactérie Gram positive

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

C3G : Céphalosporine de 3ème Génération

C2G : Céphalosporine de 2ème Génération

C1G : Céphalosporine de 1ère Génération

CLSI : Clinical laboratory standard institute

CMI : Concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique

CMB : Concentration minimale bactéricide

CPM: Concentration de prévention des mutations

EF : Etat frais.

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

GN : Gélose nutritive

GS : Gélose au sang

I : Intermédiaire

Le groupe *HACEK* : *Haemophilus, Actinobacillus, Cardiobacterium, Eikenella et Kingel*

Le groupe MLS : Macrolides-Lincosamides-Streptogramines

MLS : Macrolides, Lincosamides, Streptogramines

MDR : Multidrug résistance

MGG : May-Grunwald Giemsa

ODC : ornithine décarboxylase

## *Liste des abréviations*

---

ONERBA : Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques

ONPG : L'orthonitrophényl- $\beta$ -galactoside

PCR : Polymerase Chain Reaction

PLP : Protéine Liant les Pénicillines

PG : Peptidoglycanes

R : Résistant

SARM : Staphylococcus aureus Résistant à la Méricilline

SCN : *Staphylococcus à coagulase négative*.

TDR : Test de Diagnostic Rapide

VP : Voges-Proskauer

### **Liste des abréviations des antibiotiques**

#### **$\beta$ -LACTAMINES**

Pénicilline : PEN

Oxacilline : OXA

Ampicilline : AMP

Amoxicilline : AMX

Amoxicilline+Ac.clavulanique : AMC

Ticarcilline : TIC

Ticarcilline +Ac.clavulanique : TCC

Pipéracilline : PIP

Céfalexine : LEX

Céfazoline : CZO

Céfalotine : CEF

Céfoxitine : FOX

Céfotaxime : CTX

Ceftriaxone: CRO

Ceftazidime : CAZ

Aztréonam : ATM

## *Liste des abréviations*

---

Imipénème : IPM

Ertapénème : ERT

### **AMINOSIDES**

Gentamicine : GEN

Gentamicine Haut Niveau : GEH

Streptomycine Haut Niveau : STH

Kanamycine : KAN

Amikacine : AMK

Tobramycine : TOB

Nétilmicine : NET

### **CYCLINES**

Tétracycline : TCY

Doxycycline : DOX

### **MACROLIDES**

Erythromycine : ERY

Azithromycine : AZM

Clindamycine : CLI

Pristinamycine : PRI

Spiramycine : SPI

Quinupristine-Dalfopristine : PRI/QDE

### **PHENICOLES**

Chloramphénicol : CHL

### **POLYPEPTIDES**

Colistine: COL

### **GLYCOPEPTIDES**

Vancomycine : VAN

Teicoplanine : TEC

### **SULFAMIDES ET ASSOCIES**

## *Liste des abréviations*

---

Triméthoprim+ sulfaméthoxazol : SXT

### **QUINOLONE**

Acide nalidixique NAL

Ofloxacin OFX

Ciprofloxacine : CIP

Lévofloxacine : LVX

Gemifloxacine : GEM

### **NITROFURANTOINES**

Furanes : NIT

### **AUTRES**

Acide fusidique : FUS

Rifampicine : RIF

Fosfomycine : FOS

## Liste des figures

---

Figure 1 : Transformation bactérienne, (a) fixation de l'ADN nu, (b) intégration du fragment d'ADN après recombinaison homologue. ....	28
Figure 2 : (A) Transfert des gènes par conjugaison (B) insertion du plasmide dans le chromosome bactérien. ....	29
Figure 3 : Flacons d'hémoculture retrouvés sur le marché. ....	39
Figure 4 : Paramètres PK/PD et fenêtre de sélection des mutants résistants. ....	50
Figure 5: Gestion et analyse des résultats avec WHONET .....	63
<b>Figure 6 : Pourcentages des hémocultures positives selon le sexe.</b> .....	66
Figure 7 : Pourcentages des hémocultures positives selon l'âge. ....	66
Figure 8 : Répartition des échantillons selon les services de provenance. ....	68
Figure 9 : Répartition des échantillons selon les germes isolés .....	70
Figure 10 : Pourcentages des résistances des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques.....	72
Figure 11 : Pourcentages de résistances (R+I) des souches d' <i>E.coli</i> aux antibiotiques en 2018. ....	73
Figure 12 : Pourcentages des résistances (R+I) des souches des <i>Enterobacter cloacae</i> aux antibiotiques en 2018. ....	75
Figure 13 : pourcentages des résistances (R+I) des souches de <i>Serratia marcescens</i> aux antibiotiques en 2018. ....	76
Figure 14 : Pourcentages des résistances des souches de <i>Proteus sp</i> aux antibiotiques. ....	78
Figure 15 : Pourcentages des résistances (R+I) des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux antibiotiques en 2018. ....	79
Figure 16 : Pourcentages des résistances des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques. ....	80
Figure 17 : Pourcentages des résistances des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques.....	82
Figure 18 : Pourcentages des résistances des souches de <i>Staphylococcus coagulase négative</i> aux antibiotiques. ....	83
Figure 19 : Pourcentages des résistances des souches d' <i>Enterococcus faecalis</i> aux antibiotiques.....	85
Figure 20 : Pourcentages des résistances (R+I) des souches d' <i>Enterococcus faecium</i> aux antibiotiques. ....	86
Figure 21 : Pourcentages des résistances des souches de <i>Streptococcus sp</i> aux antibiotiques. ....	87
Figure 22 : Pourcentages des résistances des souches de <i>Salmonella sp</i> aux antibiotiques. ....	89
Figure 23 : Nombre et pourcentages des BLSE+ des hémocultures de CHU de Tizi-ouzou en 2018. ....	90
Figure 24 : Répartition en pourcentage des SARM+.....	91
Figure 25 : Comparaison en pourcentage des résistances de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018. ....	93
Figure 26 : Comparaison en pourcentage des résistances d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018. ....	94
Figure 27 : Comparaison en pourcentage des résistances de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018. ....	95
Figure 28 : Comparaison en pourcentage des résistances de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018. ....	96

## *Liste des tableaux*

---

Tableau 1: Les caractères d'identification des Cocci Gram Positif. ....	31
Tableau 2: Les caractères d'identification des Bacille Gram Négatif .....	32
Tableau 3 : Interprétation des résultats d'une hémoculture. ....	44
Tableau 4 : Classification des bactéries isolées en hémocultures selon leurs pouvoirs pathogènes. ....	45
Tableau 5 : Sites et mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques .....	48
Tableau 6 : Nombres des examens microbiologiques réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie. ....	65
Tableau 7 : Nombres des hémocultures positives et négatives. ....	65
Tableau 8 : Nombres et pourcentages des hémocultures positives selon le sexe .....	65
Tableau 9: Nombres et pourcentages des hémocultures positives selon l'âge. ....	66
Tableau 10 : Répartition des échantillons selon les services de provenance. ....	67
Tableau 11 : pourcentage et nombre des bactéries à Gram négatif et Gram positif isolés des hémocultures. ....	69
Tableau 12 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques. ....	71
Tableau 13 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches d' <i>E.coli</i> aux antibiotiques. .	73
Tableau 14 : Nombre et pourcentages des résistances (R+I) des souches d' <i>Enterobacter cloacae</i> aux antibiotiques en 2018. ....	74
Tableau 15 : Nombre et pourcentages des résistances (R+I) des souches de <i>Serratia marcescens</i> aux antibiotiques en 2018. ....	76
Tableau 16 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de <i>Proteus sp</i> aux antibiotiques. ....	77
Tableau 17 : Nombres et pourcentages des résistances des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux antibiotiques en 2018. ....	79
Tableau 18 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques. ....	80
Tableau 19 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques .....	81
Tableau 20 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de <i>Staphylococcus coagulase négative</i> aux antibiotiques isolées d'hémocultures. ....	83
Tableau 21 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches <i>Enterococcus faecalis</i> aux antibiotiques .....	84
Tableau 22 : Nombre et pourcentages des résistances (R+I) des souches d' <i>Enterococcus faecium</i> aux antibiotiques en 2018. ....	86
Tableau 23 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de <i>Streptococcus sp</i> aux antibiotiques isolées des hémocultures. ....	87
Tableau 24 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de <i>Salmonella sp</i> aux antibiotiques isolées d'hémocultures. ....	88
Tableau 25 : Répartition en nombre et en pourcentages des BLSE+ selon les germes durant l'année 2018. ....	90
Tableau 26 : Evolution des BLSE en hémoculture de 2016 à 2018. ....	91
Tableau 27 : Répartition en nombre et en pourcentage des SARM+ .....	91
Tableau 28 : Evolution des SARM+ en hémoculture de 2016 à 2018. ....	92

## *Liste des tableaux*

---

Tableau 29 : Les pourcentages des résistances de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018 .....	92
Tableau 30 : Les pourcentages des résistances d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018.....	93
Tableau 31 : Les pourcentages des résistances de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018. ....	94
Tableau 32 : Les pourcentages des résistances de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018. ....	95

---



*Introduction*

## **Introduction**

L'hémoculture est un examen capital en pathologie infectieuse, qui permet au clinicien, souvent contraint de suspecter le germe causale, de faire le diagnostic des infections bactériennes graves (septicémies, endocardites infectieuses ...) et de connaître le profil de sensibilité aux antibiotiques afin de donner une base objective à l'antibiothérapie probabiliste des infections.

L'identification des bactéries à partir des hémocultures positives a eu un essor considérable et les tests de sensibilité aux antibiotiques permettent de corriger rapidement la prescription probabiliste.

La réussite du traitement dépend alors du bon choix des antibiotiques qui sont cependant rendus inefficaces le plus souvent par les phénomènes de résistance bactérienne et même de multi résistances. Les bactéries sont dites multi résistantes aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et / ou acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique.

Nous sommes confrontés actuellement à une montée alarmante de cette résistance, ce qui fait, de la maîtrise de la diffusion de ces bactéries, une priorité de santé publique. Les conséquences de leur diffusion sont considérables : l'émergence des infections nosocomiales, l'augmentation de morbidité et dans certains cas de la mortalité, l'augmentation des coûts du système de santé. Mais surtout, pourrait-on un jour se retrouver désarmé pour combattre une infection bactérienne ?

La fréquence et la gravité de l'augmentation des infections bactériennes, le mauvais usage des antibiotiques, et les défis liés à la sensibilité de ces derniers nous ont emmené à réaliser une étude de la sensibilité aux antibiotiques des germes responsables de septicémies isolés à partir des hémocultures au laboratoire de microbiologie du CHU de TIZI OUZOU.



## *Objectifs*

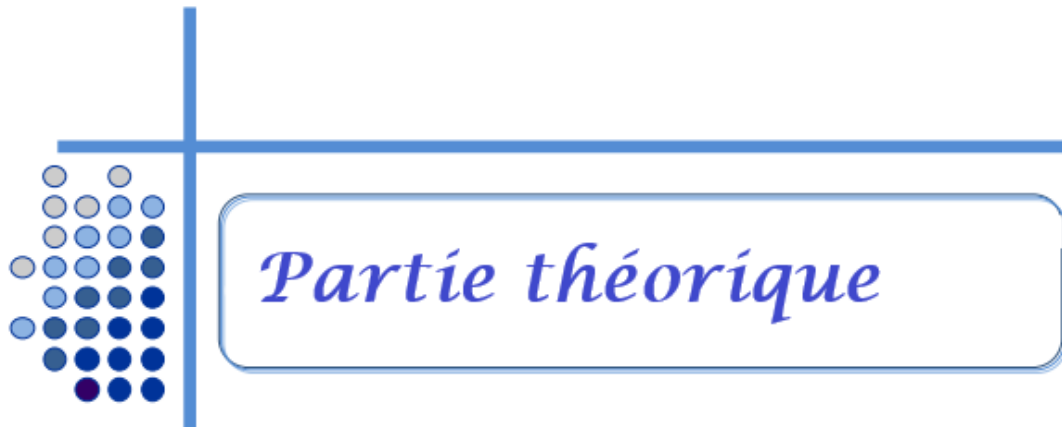
### **OBJECTIFS**

#### **Objectif principal**

Apprécier l'état de la sensibilité et d'évaluer la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des hémocultures durant l'année 2018 au laboratoire de microbiologie au centre hospitalier et universitaire Nedir Mohamed de Tizi Ouzou.

#### **Objectifs secondaires**

- Mettre en place les bonnes pratiques d'hémoculture.
- Déterminer les germes isolés et leurs fréquences dans les hémocultures positives au laboratoire
- Préciser le profil de résistance des bactéries isolées aux antibiotiques.
- Déterminer la fréquence des bactéries multi-résistances dans les hémocultures au laboratoire.



*Partie théorique*

---

*Chapitre I :*



*Généralités*

## 1. HISTORIQUE

Au milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle, l'étude d'une maladie particulière « le Charbon » chez les moutons et le bétail, qui a permis d'établir que des germes microscopiques étaient la cause d'une maladie.

En 1850, **DAVAINE**, un médecin Parisien fait un examen microscopique du sang d'un mouton mort de charbon, alors appelé « sang de rate » et observe des bâtonnets plus ou moins longs et flexueux.

En 1860, **DELAFOND** trouve l'idée de mettre « en culture le sang en dehors de l'organisme », à cet effet, il prélève du sang sur les animaux malades du charbon encore vivants et aussi sur des cadavres. Ce sang est déposé dans les petits vases en verre à ouverture élargie et placés à l'air libre. Quatre jours après, les baguettes avaient augmenté du double et du triple de leur longueur.

Le but qu'avait **DELAFOND** d'étudier les variations morphologiques des éléments microscopiques était atteint, bien qu'aucun milieu nutritif n'ait été utilisé à l'époque avec la notion d'hémoculture.

Dés 1865, le rôle que joue, la « culture du sang », apparait dans les travaux de **Louis PASTEUR**. Il s'agit d'une part, de ses recherches sur la bactérie charbonneuse et d'autre part sur la « théorie des germes et ses applications a la médecine et a la chirurgie » parues en 1878.

Le 11 mars 1879, **PASTEUR**, à l'Académie de Médecine de Paris, rapporte des cas de culture en clinique humaine. La technique utilisée pour le prélèvement est une « piqure à l'index de la main gauche, qui avait été préalablement et convenablement lavé et essuyé avec un linge flambé ». La nature du milieu de culture n'est évidemment pas négligeable. **PASTEUR** évoqua alors « la nécessité d'un milieu de culture approprié pour chaque germe ».

**ROSEMBACH**, en 1884, est l'un des premiers à avoir obtenu une hémoculture positive au cours de l'évolution de la maladie. [1]

## 2. NOTION DE BASE SUR LES BACTERIES

### 2.1. DEFINITION

Une bactérie est un micro-organisme unicellulaire, procaryote (pas de noyau). Le matériel génétique est présent dans le cytoplasme sous forme d'un chromosome unique circulaire. Dans le cytoplasme, on trouve d'autres éléments comme les ribosomes essentiels à la fabrication de protéines ou encore des organites responsables du fonctionnement métabolique. [2] Elle se reproduit par scissiparité : chaque division bactérienne donne naissance à deux bactéries filles identiques, elle est capable d'échanger du matériel et d'acquérir ainsi de nouveaux caractères. [3]

Toutes les bactéries ne sont pas néfastes au corps humain, l'homme est d'ailleurs colonisé par plusieurs centaines de milliards de bactérie dont le rôle est de veiller à notre protection. [4]

### 2.2. ANATOMIE BACTERIENNE

Une bactérie est constituée d'éléments obligatoires et d'éléments facultatifs :

#### A/ Les éléments obligatoires

. **La paroi** : présente chez toutes les espèces de bactéries sauf les mycoplasmes, structure la plus externe de la bactérie, rigide, de nature polymérique, avec structure de base: la muréine, appelée par extension peptidoglycane. Son rôle est de maintenir l'intégrité structurelle de la bactérie (malgré la forte pression osmotique). [5] On peut distinguer deux grandes classes de bactéries à l'aide de coloration de Gram, elles seront alors soit Gram positives (violet) ou Gram négatives (rose). Structurellement c'est l'épaisseur du peptidoglycane qui permet ce classement : si le peptidoglycane est épais et riche, il s'agit d'une bactérie Gram +, s'il est fin et composé en majorité de lipide, il s'agit d'une bactérie Gram -. [2]

. **La membrane cytoplasmique** : Cette membrane est la limite externe du cytoplasme. Elle est constituée d'une double couche d'unités de phospholipides (35 %) et de protéines qui lui sont associées (65 %). Certaines de ces protéines jouent un rôle dans la synthèse du peptidoglycane et sont appelées protéines de liaison aux pénicillines (PLP). [2]

. **Le cytoplasme** : De structure beaucoup plus simple que celle des cellules eucaryotes. Le cytoplasme ne contient pas en effet de mitochondries : les enzymes transporteurs d'électrons sont localisés dans la membrane cytoplasmique. En revanche, il est particulièrement riche en ARN solubles (ARN messenger et ARN de transfert) et surtout en ARN particulaire ou ribosomal. Les ribosomes, au nombre de 15000 environ par bactérie, représentent 40 % du poids sec de la bactérie et 90 % de l'ensemble de l'ARN. [2]

Les ribosomes sont la cible d'action de nombreux antibiotiques. Ils sont classiquement divisés en 2 sous-unités : la sous-unité 30S contient de l'ARNr16S et est la cible des aminosides et des cyclines ; la sous-unité 50S est constituée d'ARNr23S et est la cible des macrolides et apparentés. [6]

**L'appareil nucléaire** : C'est le support de l'information génétique. L'analyse chimique de l'appareil nucléaire indique qu'il est composé à 80 % d'ADN (le chromosome), à 10 % d'acide ribonucléique ou ARN (rôle de structuration) et à 10 % de protéines. Ces dernières sont représentées en particulier par les ADN polymérase qui copient les doubles brins d'ADN, les topoisomérase, surtout les ADN gyrase, qui les déroulent pour permettre l'action des polymérase, et des ARN polymérase qui assurent la synthèse des divers ARN. [7]

#### B/ Les éléments facultatifs

. **Le Glycocalyx** : C'est un feutrage, un ensemble de fibres qui entoure les bactéries et qui permet d'adhérer à un support. [8]

. **La Capsule** : constituant superficiel. Il n'existe que chez certaines bactéries. Donc il n'est pas indispensable à la survie de la bactérie. Si la capsule est présente = la bactérie est plus virulente. [8]

. **L'ADN extra chromosomique ou plasmide** : C'est une molécule d'ADN cytoplasmique qui n'est pas présente chez toutes les bactéries et qui a une capacité de réplication autonome. Cet ADN est une molécule bi-caténaire, circulaire. C'est lui qui porte la résistance aux antibiotiques. [9]

. **Les flagelles** : (constitue l'antigène H) assurent la mobilité des bactéries. [8]

.**Pili ou fimbriae** : on différencie:

- Pili commun: un élément qui permet aux bactéries d'adhérer aux supports.
- Pili sexuel: creux à l'intérieur, capable de transmettre l'ADN bactérien par conjugaison.

.**La spore (constitue l'antigène K)** : Dans certaines conditions très défavorables la bactérie se transforme en spore. Elle va se protéger en formant une coque. [8]

### 3. GENETIQUE BACTERIENNE

#### 3.1. Définition de la génétique

La génétique bactérienne a pour objet l'étude du génome des bactéries à savoir les gènes, leurs variations génotypiques et leurs expressions phénotypiques. Un certain nombre d'éléments rentrent en jeu dans le cadre de la génétique bactérienne, ce sont :

- **Les chromosomes circulaires.**
- **Les plasmides (ADN extra chromosomique).**
- **Les éléments génétiques mobiles** : ce sont des fragments d'ADN transposables (c'est-à-dire capables d'être transférés d'un site donneur vers un site cible sous l'effet d'une enzyme de recombinaison spécialisée, ou recombinase). On peut les classer en :
  - **Séquences d'insertion (IS)** : ce sont les éléments transposables les plus simples. Elles ne contiennent que les informations génétiques nécessaires à leur transposition et sont donc considérées comme phénotypiquement cryptiques. [10]
  - **Transposons (Tn)**: Ce sont des gènes qui portent les déterminants de la transposition (excision, intégration, transposition) et des gènes qui codent pour d'autres fonctions, par exemple la résistance aux antibiotiques. [10]
  - **Bactériophages transposables** : c'est le plus connu d'un petit groupe de phages transposables aussi appelés phages mutateurs en raison des mutations créées lorsqu'ils s'intègrent au hasard dans le génome de la bactérie hôte. [10]
  - **Intégrons** : sont plutôt « **des éléments mobilisateurs** » que des éléments transposons proprement dits. Ils résident sur les chromosomes, les plasmides ou les transposons, et piègent

des séquences d'ADN appelées « **cassettes** » qui contiennent le plus souvent un gène de résistance aux antibiotiques [10]

- **Les phages tempérés, plasmides intégratifs:** sont considérés comme des éléments transposables. [10]

### 3.2. Variations génétiques

Deux grands éléments expliquent la variabilité du génome bactérien : les mutations et les transferts génétiques. Dans ces deux cas il y aura conservation et transmission du patrimoine génétique de la bactérie mère à la bactérie fille. Ainsi, la variation génétique touchant une certaine bactérie et puis l'ensemble de sa descendance. C'est pourquoi il sera important de différencier ces variations génotypiques des variations phénotypiques.

3.2.1. **Variations phénotypiques** : Ce sont des variations temporaires, réversibles et non transmissibles. Elles correspondent à l'adaptation de la bactérie à son milieu, comme par exemple les enzymes inductibles qui apparaissent en fonction du milieu de vie. [11]

3.2.2. **Variations génotypiques** : Ce sont des variations définitives, irréversibles et transmissibles, elles se divisent en : mutations et en transferts génétiques. [11]

3.3. **La mutation** : C'est une modification (changement permanent) héréditaire dans la séquence nucléotidique du matériel génétique qui peut engendrer des modifications phénotypiques.

3.3.1. **Caractères de la mutation bactérienne** : Les mutations se caractérisent par leurs : spontanéité, rareté, discontinuité, stabilité, spécificité et indépendance. Elles peuvent survenir dans des conditions physiologiques normales : **Les mutations naturelles** ; comme elles peuvent survenir sous l'influence de facteurs externes (physiques, chimiques..) on parlera de **mutations induites**.

- **Spontanéité ou induction** : la mutation précède la sélection.

- **Discontinuité (caractère brusque)** : La mutation s'effectue en une seule étape (loi du tout ou rien), il existe cependant des mutations pleiotropes qui affectent plusieurs gènes successivement. [12]

- **Stabilité** : Le caractère acquis est alors transmissible à la descendance, donc il est héréditaire. [13]

- **Rareté** : La mutation est un phénomène rare qui n'affecte qu'une faible fraction de l'ensemble des cellules bactériennes au sein d'une large population.

- **Indépendance et spécificité** : La mutation n'affecte habituellement qu'un seul caractère.

### 3.3.2. Mécanismes de la mutation

Tout changement dans la séquence nucléotidique d'un gène constitue une mutation. Ce changement peut se faire soit par :

**-Substitution (mutations ponctuelles) :** La substitution est le remplacement d'un nucléotide par un autre dans la structure primaire de l'acide nucléique. Les transversions résultant de la substitution d'un nucléotide par un autre d'une autre famille chimique (Purine ↔ pyrimidine) et causent plus de mutations que les transitions. En effet, ces dernières résultent de la substitution d'un nucléotide par un autre mais de la même famille chimique (purine ↔ purine ou pyrimidine ↔ pyrimidine). [14]

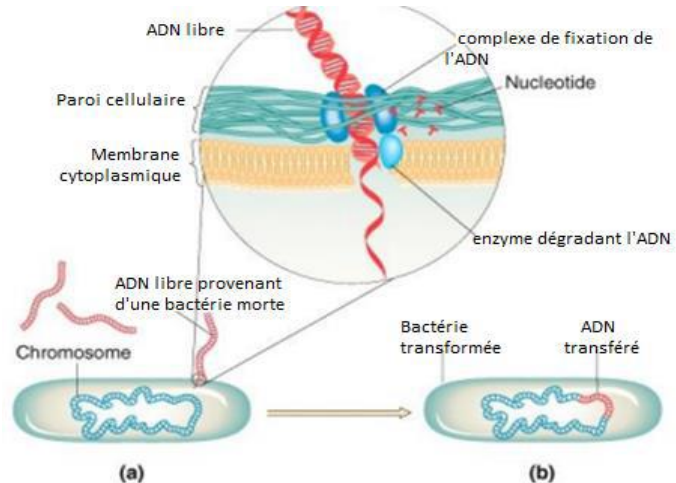
**-Délétion et Insertion :** Les délétions et insertions sont respectivement la suppression ou l'addition de nucléotides dans la séquence primaire d'un acide nucléique. [14]

**-Transposition :** Les transpositions résultent de l'incorporation d'acides nucléiques synthétisés hors du génome par une transposase qui incorpore ces acides nucléiques dans le génome de la cellule, ce qui augmente les chances de produire des caractères nouveaux. [14]

## 3.4. Transfert du matériel génétique

Transferts génétiques peut être l'objet de variations génétiques autres que la mutation, par :

**3.4.1. La Transformation :** c'est un transfert passif d'ADN d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice. Le transfert entraîne l'acquisition par la bactérie réceptrice de nouveaux caractères génétiques stables et transmissibles



**Figure 1 :** Transformation bactérienne, (a) fixation de l'ADN nu, (b) intégration du fragment d'ADN après recombinaison homologue. [14]

### 3.4.2. La conjugaison

Il s'agit du transfert du facteur F d'une cellule donatrice vers une réceptrice, ce qui confère la propriété de synthétiser un pili sexuel indispensable au transfert génétique et à l'attachement des deux bactéries.

Dans le cas des bactéries HFr (haute fréquence de recombinaison) par exemple ; il y a transferts des caractères chromosomiques. [14]

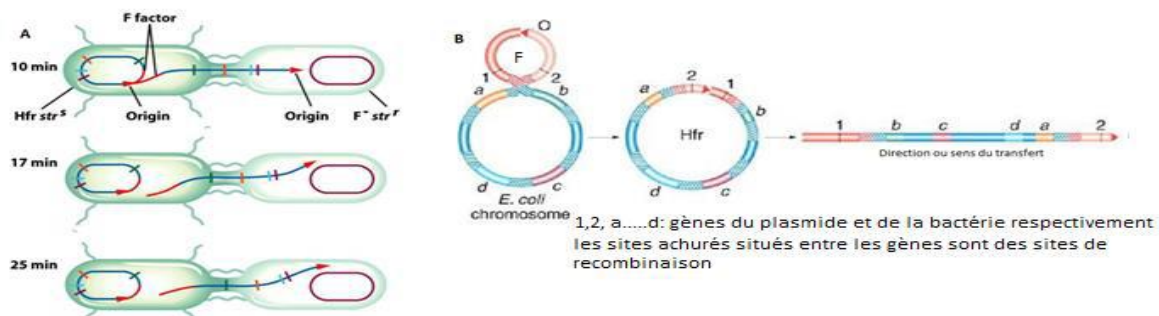


Figure 2 : (A) Transfert des gènes par conjugaison (B) insertion du plasmide dans le chromosome bactérien. [14]

**3.4.3. La transduction :** est un processus qui consiste en un transfert de matériel génétique d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse, par l'intermédiaire d'un vecteur viral (un bactériophage). [14]

#### 3.4.3.1. Définition du bactériophage

Les bactériophages connus aussi sous le nom de phage, sont des éléments parasites obligatoires intracellulaires, qui infectent les cellules bactériennes.

#### 3.4.3.2. Cycle de multiplication du bactériophage

L'infection de la cellule hôte par un bactériophage présente deux aspects:

-Le bactériophage se reproduit aux dépens de la bactérie et la détruit: c'est l'**infection lytique**.

Les bactériophages qui lysent ainsi toutes les bactéries qu'ils infectent sont appelés des **bactériophages virulents**.

-Lorsque le génome du phage s'insère dans celui de la cellule hôte prend alors le nom de prophage ,il sera dupliqué en même temps que le génome cellulaire à la faveur des divisions, ce qui lui permet de se répandre sans détruire les cellules dont il dépend. Ces bactéries qui survivent à l'infection sont dites **Lysogènes (cycle lysogénique)** parce qu'elles sont capables, dans certaines circonstances, de se lyser en libérant des virions. Ces genres de bactériophages sont appelés des **bactériophages tempérés**. [14]

## 4. RAPPEL PHSIOPATHOLOGIQUE DE LA SEPTICEMIE

**4.1. Définition de la septicémie ou sepsis :** C'est le passage répété des bactéries dans le sang à partir d'un foyer tissulaire de multiplication microbienne. Ce foyer s'est constitué lors de la pénétration des bactéries exogènes par une porte d'entrée muqueuse ou tégumentaire. Au cours d'une septicémie, les bactéries régulièrement véhiculées par le sang peuvent aller ensemençer d'autres tissus, créant alors des foyers secondaires ou métastases infectieuses qui peuvent à leur tour, ensemençer le sang circulant.

**4.2. Définition de la bactériémie :** La septicémie doit être différenciée de la simple bactériémie qui est le passage dans le sang d'une faible quantité de bactéries, bénin et transitoire non accompagné d'un syndrome infectieux général sévère. [15,16]

Actuellement, on définit 3 types de bactériémies:

- **Transitoire:** décharges brèves de bactéries dans le sang, sans manifestations cliniques et spontanément résolutive;
- **Continue:** décharges continues qui se rencontrent notamment lors d'endocardites ou en cas de brucellose ou de fièvres typhoïde;
- **Intermittente:** décharges bactériennes répétées à la suite d'infections diverses

La présence d'une bactérie dans le système circulatoire provoque divers signes cliniques, l'évènement initiateur est la libération par l'agent causal de débris de paroi (peptidoglycane et acide teichoïque) et d'endotoxines produites par les bacilles à Gram négatif. [17]

Ce syndrome infectieux se manifeste cliniquement par : [18]

- une fièvre fréquemment accompagnée de frissons et sueurs
- un risque de choc septique : accident évolutif aigu redoutable et pouvant être responsable de la mort en quelques heures.

Selon les localisations de la porte d'entrée et du foyer, on distingue trois schémas physiopathologiques

### 4.3. Septicémie thrombophlébitique

La porte d'entrée est souvent tégumentaire (brèche cutanée traumatique ou chirurgicale). Le foyer se constitue au voisinage de la porte d'entrée et consiste en un coagulum de fibrine infiltré de cellules sanguines et immunitaires et colonisé par les bactéries (thrombus infecté). De ce thrombus se détachent irrégulièrement des fragments (micro-embolies septiques) qui ensemençent massivement le sang. Les métastases sont fréquentes et intéressent surtout les tissus pulmonaires, nerveux, rénaux et le système réticulo-endothélial. L'aspect de la courbe thermique est irrégulier (fièvre désarticulée), les germes en cause sont surtout des staphylocoques et des streptocoques.

#### 4.4. Septicémie à point de départ lymphatique

La porte d'entrée est souvent digestive. Les bactéries pathogènes traversent la muqueuse intestinale et se multiplient notamment au niveau des ganglions mésentériques qui constituent le foyer. A partir de ces foyers mésentériques, quelques bactéries peuvent gagner le sang par le canal thoracique et aller constituer des métastases notamment dans le tissu réticulo-endothélial. Cependant, le plus souvent, les bactéries restent dans les ganglions ou leur lyse libère de grande quantité d'endotoxines qui passent dans le sang. Il s'ensuit des chocs endotoxiques fréquents et une fièvre rythmée ou en plateaux de plus en plus élevés. Les bactéries impliquées sont le plus souvent des bactéries dites intracellulaires, notamment les salmonelles (fièvre typhoïde) et les brucelles (brucelloses).

#### 4.5. Septicémies endocardiques

Ce type de septicémies survient surtout dans des cas de lésions cardiaques préexistantes (ex : valvulopathie) ou chez les porteurs de prothèses cardiaques ou vasculaires. Les bactéries responsables sont fréquemment des streptocoques (viridans), *staphylococcus epidermidis et aureus*, *enterococcus sp.* Ces bactéries bien adaptées au milieu, sont parfois défectives (paroi absente ou anomalie). De ce fait, elles peuvent être résistantes aux antibiotiques et difficilement cultivable.

#### 4.6. Autres scénarios physiopathologiques

Chez le nouveau-né, la contamination se fait lors de la naissance ou plus rarement par voie trans-placentaire. Les germes fréquemment en cause sont *Escherichia coli*, les streptocoques du groupe B et *Listeria sp.* Les signes cliniques sont particuliers : fièvre ou hypothermie, détresse respiratoire, méningites. [19,20]

### 5. PRINCIPAUX GERMES RESPONSABLES DE SEPTICEMIE

#### 5.1. Les Cocci à Gram Positif :

Tableau 1: Les caractères d'identification des Cocci Gram Positif. [21]

Espèce	Caractère morphologique	Caractères cultureux	Caractères biochimiques	Caractères antigéniques
<b>Streptocoque</b>	Cocci en chaînette +/- longue, acapsulé, asporulé, immobile.	Germe exigeant (GS) <u>En bouillon</u> : dépôt au fond en mise de pain. <u>Sur gélose au sang</u> : colonies grisâtres en grain de semoule entouré de zone d'hémolyse $\beta$ total (Streptocoque A,C, G) autres streptocoque hémolyse $\alpha$ partiel ou pas d'hémolyse	Métabolise anaérobique/ aérobie tolérant. Catalase(-).	Polyosique C permet une classification de Lancefield, le groupe A contient une protéine M, antigène de virulence par la résistance aux phagocytoses.
<b>Pneumocoque</b>	Diplocoque en flamme de bougie encapsulé, parfois en courtes chaînettes	Pousse sur gélose eu sang en anaérobie sous CO <sub>2</sub> , donne des colonies lisses, transparentes, entouré de zone d'hémolyse $\alpha$ .	Anaérobique/ aérobie tolérant. Catalase(-), sensible à l'optochine. Lyse de sa capsule par un tensio-actif (phénomène NEUFELD)	Capsule de nature polysaccharidique, caractérisé par un gonflement à l'examen microscopique, rôle de pathogénicité en empêchant la phagocytose.
<b>Les enterocoques</b>	Diplocoque	Pousse sur milieu ordinaire, hostile (NaCl6.5%, bile)		Appartiennent au groupe D de Lancefield.
<b>Staphylocoque</b>	Cocci groupés en amas, immobile, non capsulé. <i>S.aureus</i> possède une capsule polysaccharide, un slime et une teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée	Aéro-anaérobie facultatif, croît sur milieu ordinaire GN, et sur milieu Chapman.	Catalase (+), Oxydase (-), dégrade le mannitol. <i>S.aureus</i> possède une coagulase (+) contrairement aux autres espèces.	Antigène somatique: Protéine A associée au PG caractérise <i>S.aureus</i> se fixe sur le fragment Fc d'IGg. Le PG et les acides teichoïques induisent une inflammation et une défaillance multiviscérale.

## 5.2. Bacilles à Gram Négatif :

Les Enterobacteries ont des caractères biochimiques communs : Fermentent le glucose, ne possèdent pas d'oxydase, réduisent les nitrates en nitrites.

**Tableau 2: Les caractères d'identification des Bacille Gram Négatif [22]**

Espèce	Caractère morphologique	Caractère culturels	Caractère biochimique	Caractère antigénique
<b>Escherichia coli</b>	Bacille mobile le plus souvent	Aéro-anaérobie facultatif, pousse sur milieu ordinaire, donne des colonies lisses arrondies, à bord régulier.	Lactose (+), ONPG(+), indole(+), Urée (-), Citrate (-)	Antigène somatique O dans la paroi bactérienne. Antigène flagellaire H, Antigène capsulaire K.
<b>Klebsiella pneumoniae</b>	Bacille immobile, non sporulé, encapsulé.	Pousse sur milieux ordinaire. Aspect muqueux des colonies	Gaz +++, urée, VP, ONPG et lactose(+), Indole(-), ODC(-)	Antigène somatique O, surtout Antigène capsulaire K.
<b>Enterobacter cloacae</b>	Bacille mobile, 80% des espèces encapsulées, dotées de pilus commun	Pousse sur GN les colonies sont brillantes opaques, d'aspect gras.	Réaction de rouge de mathyle (-), VP et ONPG (+), urée et indole (-), gaz en glucose +	
<b>Serratia marcescens</b>	Bacille mobile		ONPG et VP (+), urée, indole et H <sub>2</sub> S (-)	
<b>Proteus</b>	très mobiles pouvant envahir les milieux de culture		uréase +, tryptophane désaminase +	
<b>Salmonella typhi</b>	Mobiles par ciliature péritriche pas de capsule	Milieux Hektoen , Milieu SS	Saccharose –lactose (-) ; H <sub>2</sub> S faiblement(+)	Antigène somatique O synthèse d'anticorps agglutinants
<b>Haemophilus</b>	Coccobacilles à polymorphisme très important, Immobile, non sporulés.	Aeroanaerobies facultatifs Auxotrophes: exigeants en facteurs de croissance	Oxydase + tardive, catalase +. En fonction de 3 caractères : ODC, Urée Indole, on a 8 biovars chez <i>H.influenzae</i> et 3biovars chez <i>H.parainfluenzae</i> .	capsule polysaccharidique différencie les sérotypes, de a à f Le sérotype b est le plus fréquent.
<b>pseudomonas aeruginosa</b>	Mobiles produisant un pigment bleu : la pyocyanine et une toxine	aérobies stricts	Oxydase ,catalase (+), métabolisme oxydatif des sucres, réduit les nitrates.protéolytique	Antigène somatique O thermostable Antigène flagellaire H

## 6. Quelques résistances naturelles aux antibiotiques

### 6.1. Bacilles Gram négatif non exigeants

**Klebsiella sp** : AMP /AMX, TIC /PIP

**Enterobacter cloacae** : AMP / AMX, AMC, C1G, céfoxitin.

**Proteus mirabilis** : tétracycline, colistine, furanes.

**E.aerogens** : AMP /AMX, AMC, C1G, céfoxitine.

**E.marcesens** : AMP /AMX, AMC, C1G, colistine.

**P.mirabilis** : tétracycline, colistine, furanes.

**P.vulgaris** : AMP/AMX, C1G, tétracycline, colistine, furanes.

**P .morganii** : AMP /AMX, AMC, C1G, tétracycline, colistine, furanes.

### 6.2. Bacilles Gram négatif non exigeants et non fermentaires s et autres BGN

**Pseudomonas aeruginosa** : AMP /AMX, tétracycline, céftriaxone, kanamycine, céfotaxime, chloramphénicol, quinolones, céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération

**Acinetobacter baumannii** :AMP /AMX ,triméthoprim, fosfomycine,furanes , C1G, C2G.

**Autres BGN** : AMP /AMX ,erythromycine ,céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération

### Bacilles Gram négatifs exigeants.

**Haemophilus** :Macrolides (cycle 16 atomes :spiramycine ,josamycine ,midécamycine),Lincosamides.

### 6.3. Bactéries à Gram positif

**Staphylococcus saprophyticus** :fosfomycine, novobiocine

**Micrococcus** :furanes .

**Streptococcus dont streptococcus pneumoniae** :aminoglycosides ( bas niveau),peifloxacine.

**Enterococcus** :oxacilline ,céphalosporines ,ertapénème, aminoglycosides ( bas niveau), peifloxacine ,fosfomycine ( bas niveau) ,sulfamides, acide fucidique .

**Enterococcus faecalis** :lincosamides, streptogramines A.

**Enterococcus faecium** : imipénème [24]

---

*Chapitre II :*



*Hémoculture*

## 1. Définition de l'hémoculture

L'hémoculture est un examen microbiologique qui consiste à mettre en culture du sang circulant qui est normalement stérile dans des milieux de culture appropriés, afin de pouvoir rapidement détecter et identifier l'agent infectieux responsable d'infection grave (**bactériémie**, voire septicémie en cas de passages importants et répétés dans le sang des agents pathogènes).[25]

## 2. Objectifs et indications de l'hémoculture

### 2.1 Objectifs

- Mettre en culture sur des milieux la présence de l'agent ou des agents responsables d'infections septicémiques ou bactériémiques et identification des germes.
- Poser ou confirmer un diagnostic.
- Différencier une bactériémie d'une septicémie.
- Réaliser un antibiogramme afin d'orienter le choix d'un traitement antibiotique.

### 2.2 Indications

#### - Prescription classique d'une hémoculture :

- Devant tout syndrome infectieux faisant suspecter un état septicémique
- Devant des fièvres prolongées et inexplicées.
- Endocardite infectieuse : recherche de l'étiologie
- Toute personne porteuse d'un cathéter périphérique ou central, sondes ou prothèses, présentant une température supérieure à 38,5 °C ou inférieure à 36,5 °C
- Survenue de frissons, marbrures
- Complication d'un foyer suppuré (infection dentaire, furoncle, abcès...)

#### - Dans des cas particuliers :

- La recherche de *Listéria*, des leptospires se fait par hémoculture sur milieu spécial.
- La recherche des mycobactéries chez les sidéens.
- Les bacilles à croissance lente ou difficile tels que : *Brucella*, *Campylobacter*, *Légionnella*, *Bartonella*, le groupe *HACEK*, les levures et moisissures.

#### - Chez le nouveau-né : Tenir compte des principaux critères anamnestiques tels que :

- Température maternel supérieure à 38°C, survenant avant ou au début du travail.
- En cas de prématurité (< 35 semaines).
- Antécédent d'infection materno-fœtale à streptocoques du groupe B
- Rupture de la poche des eaux plus de 12 heures. [26]

### 3. Réalisation du prélèvement pour une hémoculture

#### 3.1. Le moment de prélèvement

Objectif du choix du moment: éviter tout faux négatif

- Prélever le plus tôt possible au cours de la maladie
- En dehors de toute antibiothérapie ou sous fenêtre thérapeutique de 48 - 72H.
- Bactériémie continue: peu importe le moment
- Bactériémie discontinue: pic thermique, hypothermie, frissons ou sueurs. [25]

#### A quel moment peut-on répéter les prélèvements

- pour un nouvel épisode fébrile après 48 - 72 heures d'apyrexie.
- contrôle d'un traitement antibiotique à 72 h d'une endocardite ou d'une infection endovasculaire.
- En cas d'agranulocytose fébrile avec bactériémie préalablement mise en évidence.
- En cas d'une fièvre persistance ou en cas d'une manœuvre invasive sur le même patient. [26]

#### 3.2. Les principaux sites de prélèvements pour hémocultures

Sauf indication lors de la prescription médicale, le prélèvement pour hémoculture s'effectue chez l'adulte par ponction veineuse au niveau du pli du coude.

- **Chez le nouveau-né** : Le prélèvement ombilical est souvent privilégié, malgré les risques de contamination. D'autres sites de prélèvements peuvent être sollicités : ponction de la fontanelle et ponction jugulaire.
- **Les patients en réanimation** : Privilégier la ponction veineuse périphérique
- **Chez les patients porteurs de cathéters veineux centraux ou de cathéters artériels** : Prélèvement d'une paire d'hémoculture en périphérie et une paire sur cathéter central. Les prélèvements sur cathéters veineux périphériques sont à proscrire. [26]

#### 3.3. L'antisepsie

**Respect rigoureux des règles d'asepsie et d'hygiène hospitalière en vigueur.**

- Asepsie large de la région à ponctionner et des doigts du préleveur avec une solution de Bétadine dermique, qui a une action sur les bactéries et les levures. On peut utiliser aussi une solution d'alcool-iodé et laisser agir environ 1 à 2 minutes.
- On doit veiller à laisser sécher l'antiséptique utilisé avant de procéder au prélèvement.
- La désinfection de la peau du malade doit être faite de l'intérieur vers l'extérieur.
- Les bouchons des flacons d'hémoculture seront désinfectés avec la même solution utilisée pour désinfecter la peau.

### 3.4. Les règles à respecter lors du prélèvement

- Contrôler la date de péremption des flacons de prélèvement.
- S'assurer que les flacons ne sont pas endommagés (fêlés, défectueux/douteux), qu'ils ne contiennent pas de contamination, que le bouillon n'est pas trouble ou ayant changé de couleur.
- Dès la fin du prélèvement, retourner 3 à 4 fois les flacons, afin de les homogénéiser.
- Transmettre le prélèvement le plus rapidement au laboratoire. Dans le cas contraire les conserver dans une étuve à 37°C ou au bain Marie à 35°C.
- Les flacons avec prélèvement de sang, ne sont jamais conservés dans un réfrigérateur. [26]

### 3.5. Volume du sang à prélever par hémoculture

Le recueil d'un volume suffisant de sang est nécessaire pour augmenter les chances d'isolement des germes, mais un ratio (sang/bouillon) de 1/10 voire 1/5 doit être respecté, afin d'inactiver le pouvoir bactéricide du sérum (complément, lysozyme, cellules phagocytaires) et de diluer les ATB éventuels.

- ❑ Chez l'adulte: 10 ml à 20ml, car densité bactérienne faible (1 à 10 UFC/ml).
- ❑ Chez l'enfant, nourrisson: 1 à 2 ml, car densité bactérienne plus élevée (souvent supérieur à 1000 UFC/ml). [25]

### 3.6. Nombre de flacon

Classiquement toute hémoculture comprend 2 flacons, une mise en culture en aérobiose et anaérobiose. Généralement 2 à 3 hémocultures par 24 heures espacés de 30 à 60 minutes suffisent pour poser un bon diagnostic bactériologique. Un grand nombre de prélèvements exposant à une augmentation du risque de contamination, il est conseillé de ne pas dépasser 4 hémocultures par 24 heures.

### 3.7. Type des flacons disponibles

- Systèmes manuels : Ces différents flacons contiennent un milieu liquide nutritif et sont incubés à 35°C - 37 °C à l'étuve pendant 7 jours en général.
  - **Le système Signal®** peut être équipé d'un indicateur permettant la mise en évidence d'une surpression due à la croissance bactérienne dans le flacon (Fig. 4 D).
  - Désavantage : absence de flacon anaérobie et pratique des repiquages systématiques sur tous les flacons négatifs.
  - **Système Isolator®** : pour les bactéries intracellulaires et mycobactéries, levures et filamenteux.
- Le sang est directement prélevé dans le tube (Fig. 4 E) sous vide contenant un anticoagulant et un agent lytique (saponine) qui lyse rapidement les cellules sanguines, puis centrifugation, et la mise en culture du culot.

- Intérêt : concentration des bactéries dans le lysat, il est performant.
- Désavantage: Risque de contamination +++ et couteux.



Figure 3 : Flacons d'hémoculture retrouvés sur le marché. [25]

➤ **Systèmes automatisés (Bactec<sup>®</sup> BacT/ALERT et VersaTREK<sup>®</sup>)**

Ces systèmes réservent des flacons spécifiques (de couleurs différentes) pour adulte et d'autres pour enfant (en aérobies et anaérobies), ils assurent aussi en continu et simultanément la surveillance, l'agitation, et l'incubation, de tous flacons d'hémocultures introduits. Les systèmes automatisés permettent de détecter plus facilement la croissance bactérienne tout en diminuant le temps d'incubation. La bactérie produit du CO<sub>2</sub>, induisant soit une baisse du pH, qui sera détectée par l'automate à l'aide d'un sensor, par fluorescence (Bactec<sup>®</sup>), par réflectométrie (BacT/ALERT<sup>®</sup>), soit une modification de la pression à l'intérieur du flacon qui sera détectée par un capteur externe de pression (VersaTREK<sup>®</sup>).

- AVANTAGE : pas de repiquage systématique. [25]

### 3.8. Étiquetage, fiche de renseignements et transport du prélèvement

#### A - Étiquetage

L'étiquetage du flacon doit être fait au lit du malade et comporte :

- Le nom et le prénom et l'âge du malade
- La date d'hospitalisation
- Le nom du service
- Le numéro de la salle et du lit du malade. [26]

**B - Fiche de renseignements** : une nécessité absolue, doit comporter les éléments suivants :

- Nom / prénom / âge/ Service d'origine ;

- Date / heure / mode de prélèvement ;
- Renseignements cliniques / diagnostics évoqués ;
- Traitements ATB éventuellement en cours / Examens biologiques ;
- Autres hémoculture pratiquées et résultats. [27]

**C - Transport :** Placer les flacons d'hémoculture dans des sacs en plastique et les transporter le plus rapidement au laboratoire. [26]

### 3.9. Milieux de culture servant aux prélèvements et à la mise en culture

On ensemence 2 flacons pour chaque prélèvement, un flacon aérobie et un flacon anaérobie.

Actuellement, quatre milieux sont utilisés comme base :

- Trypticase soja + Cœur-cervelle comportant du charbon, de l'automate BacT/ALERT.
- Trypticase soja dépourvu de charbon, pour les systèmes automatisés et manuels.
- Bouillon à base de peptones pour les flacons manuels (Hémoline)
- Trypticase soja enrichi en caséine-peptone supplémenté en acide aminés, de l'automate BacT/ALERT. [25]

Les principaux additifs contenus dans ses milieux sont :

- Anticoagulant : Inhibe l'activité des phagocytoses et des agents bactéricides contenus.
- Du saccharose évite la lyse de certaines bactéries à paroi déficiente.
- Les thiols : favorisent la croissance de certains streptocoques responsables d'endocardites.
- Vitamines : K3, B et l'hémine, utilisées comme facteurs de croissance pour les haémophilus.
- Atmosphère en pression réduite et du CO<sub>2</sub>, utilisés pour favoriser la culture des *Brucella*, *Neisseria*, *Campylobacter*, *Streptococcus* ...
- Des résines : utilisées comme inhibiteurs. [26]

**NB:** en Algérie on utilise le bouillon citraté (aérobie), il se présente sous forme de flacon de 250ml avec 180ml de bouillon citraté à 0,5%. [27]

## 4. La démarche du diagnostic

### 4.1. Durée et conditions d'incubation

- Durée d'incubation classique :

Les flacons d'hémoculture sont placés à l'étuve à température entre 35°C et 37°C pour une durée d'incubation de 7 jours jusqu'à 10 jours. Après 10 jours on peut juger qu'une hémoculture est négative sauf pour certaines bactéries qui ont un temps d'incubation plus long.

Par contre, pour les systèmes automatisés, une incubation de 5 jours suffit.

- Durées et incubations particulières :

- Bactéries du groupe *HACEK* : Incubation 3 à 5 jours, voir 1 mois pour *l'Actinobacillus actinomycetans*. *L'Haemophilus* exige un supplément en hémine facteur X ou en NAD facteur V.
- *Bartonella Brucella* : Culture sur gélose au sang de lapin ou de mouton, incubée en présence de CO<sub>2</sub> pendant au moins 1 mois à 37° C
- *Campylobacter* : Culture à 37°C en microaérophilie dans une atmosphère de 5 % de CO<sub>2</sub> sur milieu de Skirrow, Butzler ou Karmali incubés 72 heures.
- *Légionnella* : Culture sur milieu BCYE incubé à 37°C en atmosphère enrichie de 5% de CO<sub>2</sub>. Observation pendant 10 jours.
- *Leptospira* : Recueil du sang sur tube héparine et ensemencement en tubes de milieu Tween-Albumine ou EMJH incubés à 30°C et à l'obscurité durant 2 mois. [26]

## 4.2 Détection de la croissance bactérienne

### 4.2.1 Examen macroscopique

La détection de la croissance bactérienne se fait chaque jour ou mieux deux fois par jour, par un examen macroscopique des flacons. Cet examen macroscopique nous permet de rechercher certains signes pouvant témoigner d'une culture probable de bactéries et qui sont les suivants :

- troubles pour : *Campylobacter, haémophilus*
- turbidité pour : bacilles à Gram (-) aérobies, *staphylococcus sp, bacteroides sp.*
- hémolyse pour : *streptococcus sp, listéria sp, staphylococcus sp, clostridium sp, Bacillus sp.*
- présence de gaz pour : bacilles à Gram (-) aérobies anaérobies.
- présence de coagulum pour : *Staphylococcus aureus*
- colonies au fond du flacon : *Streptococcus sp, Nocardia sp.*

### 4.2.2 Examen microscopique

Il portera sur un état frais et une coloration de Gram, après prélèvement à la seringue de bouillon d'hémoculture. L'intérêt essentiel de cet examen microscopique est d'informer le clinicien de la positivité de l'hémoculture et d'instituer l'antibiothérapie par l'orientation de :

- mobilité + ou (-)
- cocci à Gram (+) ou (-)
- bacilles à Gram (+) ou (-)
- Présence ou non de capsule, etc....
- Coloration au M.G.G, pour le diagnostic des levures. [26]

## 4.3 Repiquage et isolement : Deux types de repiquage :

- Repiquage suite à l'apparition de signes de positivité: effectué à la moindre suspicion de culture positive.

- Repiquage systématique: en l'absence de signe de culture : le J1, J6 et J10 voire au J15 si endocardite infectieuse (ou 30<sup>ème</sup> jour si recherche de Brucella). [27]

La réalisation d'isolement se fait en ensemencant en stries le contenu d'une anse ou d'une goutte de bouillon prélevée à la seringue, sur des milieux solides.

Les cultures étant généralement monomicrobiennes, des milieux gélosés non sélectifs seront utilisés :

- Géloses Columbia avec 5 % de sang incubées en aérobiose pendant 48 heures et en anaérobiose pendant 5 jours.
- Géloses au sang cuit enrichies (Polyvitex®), placés sous CO<sub>2</sub> pendant 48 heures lorsqu'un *Haemophilus* spp, ou une *Neisseria* spp, sont évoqués. [25]

Si à l'examen direct un mélange de bactéries est suspecté, des milieux sélectifs pourront être utilisés.

#### 4.4 Identification des bactéries isolées

##### 4.4.1 Aspect macroscopique des bactéries

La taille, la couleur, les contours, l'aspect et même l'odeur des bactéries dans les milieux de cultures, nous orientent dans l'identification des bactéries.

##### 4.4.2 Tests d'orientations : il existe plusieurs tests d'orientation, on effectue le plus souvent :

- Recherche de la catalase : selon la réaction :  $H_2O_2 \rightarrow H_2O + 1/2 O_2$
- Recherche de l'oxydase : en présence d'un chlorhydrate de diméthyl paraphénylène diamine se forme un complexe violet au contact de cette enzyme.
- Recherche de la coagulase : La coagulation du plasma de lapin oxalaté par une coagulase s'effectue à partir d'un bouillon enrichi comme le bouillon staphylocoagulase.
- Recherche d'antigène soluble : peut être réalisée directement sur le surnageant du flacon d'hémoculture ex : chez *Streptococcus pneumoniae*. [25]
- Les testes rapides : PCR multiplexe

##### 4.4.3 Identification biochimique « Galeries biochimiques »

Plusieurs tests miniaturisés en galerie dans lesquels les différents substrats sont déshydratés : système API®20NE, API®20E, API® Staph, API® NH, API® Strep, ces tests sont fondés sur l'étude d'une vingtaine voir plus de caractères en fonction des genres et espèces bactériens à identifier. [28]

##### 4.4.4 Automate VITEK d'identification bactérienne

Utilise des cartes plastiques renfermant des microcupules (carte Gram+/Gram-, carte anaérobies /corynébactéries, *Neisseria*/*Haemophilus*), contenant un substrat spécifique déshydraté qui sera testé.

##### 4.4.5 Test de la sensibilité aux antibiotiques : Antibiogramme

-L'antibiogramme : vise à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus : dans une boîte de Petri, sur une gélose MH ou MH+5% de sang de cheval (pour les germes exigeants) ensemencée par une suspension bactérienne de densité 0.5MF sur la totalité de sa surface, on dépose convenablement les disques de ses antibiotiques et selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique on trouve : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante. [29]

#### 4.4.6 Les tests complémentaires

- Mise en évidence d'une pénicillinase : réalisée pour BGN des entérobactéries.
- Mise en évidence d'une BLSE: inactive une large partie des  $\beta$ -lactamines (pénicilline, C3G).
- Mise en évidence d'une carbapénémase : Les carbapénèmes sont les  $\beta$ -lactamines ayant le spectre le plus large, Il existe 3 classes de carbapénémases (A, B, et D) [30]

## 5 Lecture et interprétation des résultats

### Lecture des boîtes:

Hémoculture classique : si culture négative, on réincube les boîtes jusqu'à 48H ou plus (repiquage J1, J6 et J10). Si culture positive, on identifie les colonies pour chaque flacon d'hémoculture :

- Aspect des colonies,examen microscopique : EF - Gram
- Tests d'orientation, identification biochimique et antigénique
- Tests de sensibilité aux ATB: antibiogramme-CMI [27]

Hémoculture automatique : Si culture négative, après une incubation de 5 jours, on peut trancher. Si culture positive: Pour chaque automate, les lectures s'effectuent toutes les 10 minutes, ce qui permet une détection précoce de la positivité d'un flacon. L'appareil avertit de tout résultat positif grâce à une alarme visuelle et/ou sonore. [25]

### Interprétation:

**Hémoculture faussement négative** : 4 possibilités :

- Le non respect des conditions de prélèvement : le prélèvement a été effectué sans le passage de bactéries viables dans le sang, car se passage est toujours bref.
- L'utilisation de milieux de culture non conformes aux exigences de la bactérie responsable.
- Un traitement par antibiotique qui a été prescrit et non signalé.
- Non respect des temps d'incubation : car pour certains germes, le temps d'incubation peut aller de 15 jours à 3 semaines d'incubation [26]

Tableau 3 : Interprétation des résultats d'une hémoculture. [27]

Hémoculture	Bactérie en cause	Interprétation
Plusieurs flacons positifs (+) à un seul germe.	Quelque soit la bactérie	Vraie bactériémie
Plusieurs flacons positifs (+) à plusieurs germes.	Souvent <i>Enterocoques</i> associés	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Faute d'asepsie</li> <li>- Foyer polymicrobien : hémopathie, immunodéprimé, brûlures étendues.</li> </ul>
Tous les flacons négatifs (-)	<p>N'élimine pas le diagnostic de bactériémie :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Volume de sang insuffisant.</li> <li>-Nombre de flacons insuffisants</li> <li>-Prélèvement non réalisé au bon moment.</li> <li>-Bactéries particulières.</li> <li>-Antibiothérapie aveugle.</li> <li>-Contrôle d'efficacité d'un traitement antibiotique.</li> <li>-Diagnostic étiologique d'un état fébrile : syndrome inflammatoire, allergie, néoplasie.</li> </ul>	
Un flacon positif (+) sur l'ensemble des hémocultures pratiquées.	Bactérie à pouvoir pathogène indiscutable.	Vraie bactériémie.
	Bactérie à pouvoir pathogène discutable : bactérie peu fréquente, germe de souillure.	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Au moins 2 flacons positifs (+)</li> <li>-Même bactérie isolée au niveau du foyer infectieux.</li> <li>-Contexte clinique en faveur : Exemple : <i>E.coli</i>/IU</li> </ul>
	Bactérie fréquemment responsable de contamination.	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Au moins 2 flacons positifs (+)</li> <li>-Même bactérie isolée d'un autre foyer infectieux ou autre porte d'entrée.</li> <li>-Terrain</li> <li>Exemple : <i>Staphylococcus epidermidis</i> chez porteurs de valve ou cathéter.</li> </ul>
	Isolement de : <i>Bacillus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Propionibacterium</i> .	Contamination vraisemblable. NB : Si terrain fragilisé, faire une nouvelle série d'hémoculture.

## 6 Les principaux germes isolés en hémoculture

Tableau 4 : Classification des bactéries isolées en hémocultures selon leurs pouvoirs pathogènes.

[27]

Groupes	Rôles	Agents microbiens
Groupe 1 : Agents pathogènes spécifiques	Indiscutable : 1 flacon(+) suffit pour poser le diagnostic	- <i>Salmonella typhi</i> - <i>Salmonella paratyphi A,B,C</i> - <i>Brucella spp</i> - <i>Haemophilus influenzae</i> - <i>Neisseria meningitidis</i> - <i>Campylobacter jejuni</i> - <i>Streptococcus pneumoniae</i> - <i>Streptococcus BH</i> groupe A, B - <i>Clostridium perfringens</i> - <i>Bacteroides fragilis</i>
Groupe 2 : Agents pathogènes opportunistes	Discuté en fonction : - Nombre de flacons (+) - Porte(s) d'entrée - Terrain	-Entérobactéries : <i>E. coli</i> , <i>KES</i> , <i>Proteus</i> , <i>Salmonelles mineures</i> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Acinetobacter baumannii</i> - <i>Staphylococcus aureus/SCN</i> - <i>Streptocoque</i> groupe D et NG -Levures : <i>Candida albicans</i>
Groupe3 : Agents commensaux ou saprophytes	Très discuté : -Flores normales et environnement -Contaminants fréquents	- <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> - <i>Corynebacterium spp</i> - <i>Bacillus spp</i> - <i>Propionibacterium acnes</i>

---

*Chapitre III :*



*Résistance bactérienne  
aux antibiotiques*

## 1. Historique

Le premier antibiotique, la pénicilline naquit de façon fortuite, grâce à Alexander Fleming. Fleming eut la surprise à son retour de vacances, le 3 septembre 1928 de trouver les boîtes de culture de staphylocoque, qu'il avait laissées sur la paillasse du laboratoire plusieurs semaines plus tôt, contaminées par des colonies cotonneuses d'un blanc verdâtre, d'une moisissure qui fut identifiée ensuite comme *Penicillium notatum*. Fleming remarqua qu'autour des colonies du champignon, le staphylocoque ne poussait pas. Il émit l'hypothèse qu'une substance secrétée par le champignon, qu'il appela tout de suite la **pénicilline**, était responsable de l'inhibition de la culture du staphylocoque. Celui-ci s'aperçut que la pénicilline inhibait les cultures de certaines bactéries, comme le streptocoque, le gonocoque ou le méningocoque, mais pas celles de *Haemophilus influenzae*. Mais en plus, et surtout, il nota qu'elle était dénuée de toxicité pour l'animal d'expérience et pour l'homme. Il publia ces observations en 1929, persuadé que la pénicilline était promise à un grand avenir. [31]

## 2. Généralités sur les antibiotiques

### 2.1. Définition de l'antibiotique

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

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

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte.

### 2.2. Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon les critères suivants :

**Origine** : élaboré par un organisme (naturel), synthétique ou semi synthétique.

**Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.

**Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).

**Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$  lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse. Elle nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$  lactamines, aminosides, tétracyclines..etc.) Nous adopterons la classification selon le mode d'action.

2.3. **Mode d'action des antibiotiques :** Les ATB agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Ils agissent par :

- Toxicité sélective au niveau de la : - Synthèse de la paroi bactérienne - Membrane cytoplasmique - Synthèse des protéines - Acides nucléiques
- Inhibition compétitive : dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie. [32]

**Tableau 5 : Sites et mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques [32]**

Site d'action	Mécanisme d'action	Les antibiotiques concernés
La paroi : Inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane	L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes bizarroïdes qui aboutissent à la lyse bactérienne.	-B-lactamines (les Pénames, pénèmes, oxapénames, les céphèmes et monobactames)  (Bactéricide)
	bloquent la polymérisation du peptidoglycane par un mécanisme complexe	Glycopeptides (Bactéricide)
	Inhibe la synthèse des précurseurs du peptidoglycane (stade précoce de sa synthèse).	Fosfomycine. (Bactéricide)
La membrane	Fixation sur les phospholipides membranaires et rupture de la barrière osmotique	Polymixines (Bactéricide)
Les acides nucléiques	-Inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur l'ADN gyrase et l'ADN topo isomérase IV -Inhibition de la transcription d'ADNm en ARNm par inhibition d'ARN polymérase. -Agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases) - Inhibe la réplication d'ADN en empêchant la fixation d'ATP sur l'ADN gyrase. -Oxydation suivie de coupure des brins d'ADN.	-Quinolone et fluoroquinolones (Bactéricide) -Rifamycines (Bactériostatique)  -Nitrofuranes  -Novobiocine  -Métronidazole
Inhibiteur de synthèse de protéine	Sous unité 30S du ribosome. Erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines.	Aminosides (Bactéricide)
	agissent au niveau de la s/unité 50S du ribosome. inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique.	Macrolides-Lincosamides-Streptogramines (Bactériostatique)
	S/unité 30S du ribosome, inhibiteurs de la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, en empêchant la fixation de l'aminoacyl-ARNt.	Tétracyclines (Bactériostatique)
	S/unité 50S du ribosome, inhibition de la polymérase	Phénicolés (Bactériostatique)
	En interférant avec le facteur d'élongation G (EF-G).	Acide fusidiques (Bactéricide)
Inhibiteurs de synthèses des folates	en se fixant sur les 2 enzymes : la dihydroptéroate synthétase (DHPS) et sur la dihydrofolate réductase.	Sulfamides et triméthoprime (Bactériostatique)

## 2.4. La CMI et CMB

### 2.4.1. Concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique: CMI

- La plus faible concentration en antibiotique capable d'inhiber toute culture visible après 18 h d'incubation...
- Valeur indicatrice du **pouvoir bactériostatique** d'un antibiotique.

### 2.4.2. Concentration minimale bactéricide: CMB

- La plus faible concentration en agent capable d'entraîner la mort d'au moins 99,99% des bactéries d'un inoculum (< 0,01% de survivants)
- Valeur indicatrice du **pouvoir bactéricide**

## 2.5. Activité intrinsèque d'un antibiotique: CMB / CMI

CMB/CMI = 4 antibiotique bactéricide

CMB/CMI = 8-16 antibiotique bactériostatique

CMB/CMI = 32 bactérie tolérante à l'antibiotique

- **Catégorisation des souches**

### Classement

$CMI \leq c$  : souche dite "sensible" à l'antibiotique

$CMI > C$  : souche "résistante"

$c < CMI \leq C$  : souche "limite" ou "intermédiaire"

Une concentration basse "c": concentration sérique moyenne mesurée chez des sujets sains

Une concentration haute "C": concentration maximale dans le sérum sans effet toxique. [33]

## 2.6. Propriétés PK/PD des antibiotiques

### 2.6.1. Définition du rapport PK/PD

L'administration in vivo d'un antibiotique à une posologie donnée (dose et intervalle d'administration) sera caractérisée par une variation de la concentration de l'antibiotique en fonction du temps, c'est le volet pharmacocinétique (PK), et par l'évolution de l'effet de l'antibiotique en fonction du temps c'est l'effet pharmacodynamique (PD).

### 2.6.2. Paramètres PK/PD des antibiotiques

En fonction de leur structure chimique, les antibiotiques de classes distinctes se caractérisent par des propriétés PK/PD variables. Ainsi, se distinguent deux groupes d'antibiotiques en fonction de leur effet :

- Les antibiotiques dits « **concentration dépendants** », dont l'effet thérapeutique dépend du quotient inhibiteur ( $C_{max}/CMI$ ), l'efficacité augmente avec la dose administrée.
- Les antibiotiques dits « **temps dépendants** », dont l'effet dépendra du temps durant lequel la concentration sérique (ou tissulaire) reste bien supérieure à la CMI. Ce sont des antibiotiques qui sont administrés en perfusion continue, ou bien à intervalles pépètes pour garantir son efficacité, ce qui sous entend des molécules à bonne stabilité.

Toute fois, au cours de la phase de métabolisme de l'antibiotique, en particulier lorsque qu'il s'agit d'une molécule « concentration dépendant », en atteint une valeur « intermédiaire », en dessous de laquelle il y a un risque d'induire des mutants résistants, par pression de sélection. Cette valeur seuil correspond à la « concentration de prévention des mutations ou CPM ». la zone entre le CPM et la CMI s'appelle « fenêtre de sélection ». l'administration en continue (perfusion) de l'antibiotique permet d'éviter cette fenêtre. [34]

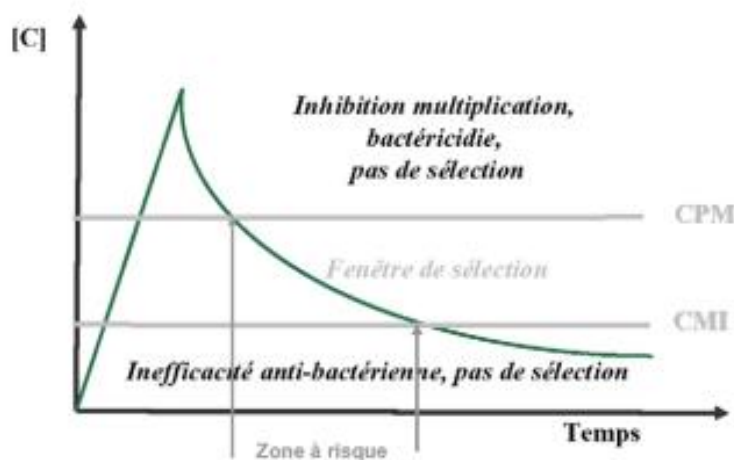


Figure 4 : Paramètres PK/PD et fenêtre de sélection des mutants résistants. [34]

La catégorisation des souches en « sensibles », « intermédiaires » ou « résistantes » se fait en tenant compte des données de CMI et de PK/PD.

L'évolution des connaissances au plan microbiologique et pharmacologique, a beaucoup contribué dans la performance et la fiabilité des tests d'antibiogramme et de CMI.

Les valeurs critiques rapportées par les différents comités d'experts sont de plus en plus spécifiques, en fonction de l'espèce bactérienne d'une part, et en fonction du site infectieux d'autre part. [34]

### 3. Résistance bactérienne aux antibiotiques

#### 3.1. Définition de la résistance

C'est la capacité à croître ou à survivre en présence de l'antibiotique, en suivant plusieurs mécanismes.

### 4. Type de résistance

#### 4.1. Résistance naturelle (intrinsèque)

Suite à la présence de gène chromosomique, elle est donc commune à toutes les bactéries d'une même espèce et peut être due à :

- Des particularités structurales s'opposant à l'action de l'antibiotique sur sa cible : la présence d'une membrane externe chez les bactéries à gram négatif les rend résistantes aux antibiotiques de haut poids moléculaire, c'est ainsi que la pénicilline G est inactive sur les Entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*. L'absence d'un système de transport actif chez les anaérobies confère une résistance naturelle aux aminosides. [33]

-Des particularités métaboliques spécifiques : le bacille de la tuberculose n'est sensible qu'à un nombre restreint d'antibiotiques en raison de son métabolisme original.

-Un processus d'échappement vis-à-vis de l'antibiotique ou par l'expression d'une enzyme d'inactivation qui détruit l'antibiotique : les entérobactéries (*Proteus sp*, *Klebsielle sp*, *Enterobacter sp*) et *Pseudomonas aeruginosa* possèdent ,dans leur patrimoine génétique(chromosome), l'information nécessaire à la synthèse d'une beta-lactamase. [34]

Dans tous les cas, la résistance naturelle fait partie des caractères normaux de l'espèce ; elle détermine le niveau de sensibilité (basal) des bactéries et définit le phénotype sauvage d'une espèce. C'est la résistance de classe .Elle est constitutive et touche toute une famille d'antibiotiques.

#### 4.2. Résistance acquise

L'apparition de la résistance acquise a été dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible. Elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. Elle est moins stable et ne concerne que quelques souches d'une espèce donnée. [35]

### 5. Mécanisme de la résistance

#### 5.1. Résistance chromosomique

Résulte d'une mutation stable, peu fréquente et apparaissant au hasard, indépendant et spécifique à un antibiotique ou une famille d'antibiotiques qui ont le même mécanisme d'action, elle est transmise

à la descendance par voie verticale. La mutation du gène peut entraîner l'apparition d'une protéine particulière ou d'une variabilité structurelle responsable de la résistance, elle peut aussi entraîner la disparition ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique normale. [36]

## **5.2. Résistance extra-chromosomique**

Elle est transmissible d'une souche ou d'une espèce à une autre selon trois modes la conjugaison, la transformation et la transduction et due à trois types d'éléments portant les gènes de résistance : [36]

### **5.2.1. Les plasmides**

Les plasmides de résistance sont identifiés à la fois parmi des bactéries pathogènes et commensales Gram positif et Gram négatif. Ils sont porteurs de gènes de résistance vis-à-vis de la majorité des antibiotiques disponibles pour un usage clinique y compris les fluoroquinolones. Il n'est pas rare qu'un seul plasmide soit simultanément porteur des gènes de résistance vis-à-vis de plusieurs antibiotiques de familles différentes ou qu'il soit porté par des gènes bactériens différents. [36]

### **5.2.2. Les intégrons**

Les intégrons de résistance ne codent pas de fonction de transposition mais, localisés sur des éléments génétiques mobiles tels que les plasmides ou les transposons, ils peuvent être transférés entre bactéries et contribuent ainsi à la dissémination des gènes de résistance aux ATB (résistance aux bêta-lactamines, aux aminosides, aux chloramphénicolés, aux fosfomycines et aux macrolides). [38]

### **5.2.3. Les transposons**

Les éléments transposables se composent au minimum d'un gène codant pour une transposase (enzyme assurant la transposition de l'élément mobile) et de séquences inversées répétées bordant l'élément. La transposase reconnaît les régions inversées répétées et catalyse la transposition des extrémités du transposon vers un site cible. Outre les séquences impliquées dans la transposition, les transposons peuvent porter des gènes accessoires comme des gènes de résistance aux antibiotiques (bêta-lactamines, aminosides, phénicolés, cyclines, érythromycine, sulfamides et triméthoprime). [39]

## **5.3. Les mécanismes biochimiques de la résistance : 04 grands mécanismes**

- Modification de la cible de l'antibiotique ;
- Production d'une enzyme qui va détoxifier l'antibiotique ;
- Imperméabilité, notamment par diminution du diamètre des porines ;
- Efflux.

### 5.3.1. Modification de la cible des antibiotiques : camouflage

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, elle est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopéptides et aux molécules du groupe MLS chez les BGP, et résistance aux quinolones chez les BGN. 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 d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible [40 ,41]

#### 5.3.1.1. Modification des PLP

Les PLP sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane et sont la cible des bêta-lactamines. Trois mécanismes peuvent intervenir :

##### a) Diminution de l'affinité des PLP pour les bêta- lactamines

La baisse d'affinité des PLP vis-à-vis des bêta-lactamines est due à l'acquisition de fragments d'ADN étranger, au niveau des gènes codant les PLP, donnant naissance à des gènes mosaïques.

Les bactéries donneuses des fragments recombinants sont *Neisseria flavescens* et *Neisseria cinerea*, deux espèces non pathogènes mais très résistantes aux bêta-lactamines. Ce mécanisme est observé chez plusieurs bactéries : *Streptococcus pneumoniae*, streptocoques du groupe viridans, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenza*.

Les pneumocoques résistants aux bêtalactamines possèdent un péptidoglycane dont la structure chimique est modifiée par rapport aux souches sensibles, cette modification est attribuée à la spécificité des PLP dérivés des gènes en mosaïque. En effet, trois PLP (PLP 1a, 2x et 2b) sur les cinq que compte le pneumocoque sont le produit de gènes en mosaïque et participent à la résistance de haut niveau mesurée dans certaines souches cliniques. [42]

**b) Augmentation de la synthèse des PLP existantes :** avec hyper-expression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les bêta- lactamines (ex : *Enterococcus sp*).

##### c) Synthèse d'une ou plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines

Chez *Staphylococcus aureus* le gène *mecA* induit la synthèse d'une nouvelle PLP (la PLP 2a) capable d'assurer l'assemblage du peptidoglycane et confère une résistance croisée aux bêta- lactamines. [43]

### 5.3.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

La bactérie acquiert la capacité d'inactiver l'action des antibiotiques par la sécrétion d'enzymes avant même qu'ils n'aient pénétrés au sein du microorganisme. Plusieurs classes d'antibiotiques sont

visées par ces enzymes dont les bêta-lactamines, le groupe MLS, les aminosides et les phénicolés. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage, par addition d'un groupement chimique ou par des réactions biochimiques empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. [44]

#### 5.3.2.1.                      **Production de bêta –lactamases**

C'est le mécanisme de résistance majeur des BGP. Les bêta-lactamases sont des enzymes bactériennes qui acétylent et hydrolysent le noyau bêta-lactame et qui rendent l'antibiotique inactif avant qu'il n'atteigne sa cible (PLP), ils sont exportés dans le milieu extra cellulaire (BGP) ou restent dans l'espace péri-plasmique (BGN). Les gènes qui codent pour les bêta-lactamases peuvent être chromosomiques ou portés par des éléments génétiques mobiles. Les bêta-lactamases sont regroupées en catégories selon leur activité hydrolytique et leur sensibilité aux inhibiteurs : [45]

##### **a) Les pénicillinases sensu stricto**

Chez *Staphylococcus aureus*, elles inactivent la pénicilline G, la pénicilline A et les uréidopénicillines. Elles sont inactives sur la pénicilline M (oxacilline , méticilline) ainsi que sur les céphalosporines. Ces pénicillinases sont inductibles et codées par des plasmides ou des transposons. [46]

##### **b) Les bêta- lactamases à spectre élargi**

Elles entraînent une résistance ou une diminution d'activité vis-à-vis des pénicillines G, des pénicillines M, des carboxypénicilline, des uréidopénicilline, des C1G et C2G(sauf les céphamycines).

Les BLSE sont bien inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam. [47]

##### **c) Les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)**

Ce sont des enzymes qui hydrolysent l'ensemble des pénicillines et des céphalosporines à l'exception des céphamycines (céfoxitine, céfotétam).

##### **d) Les pénicillinases**

Les premières BLSE dérivent des pénicillinases de type TEM-1, TEM-2 (TEMONEIRA le nom du patient) ou SHV-1(SULFHYDRYL VARIABLE) par une ou plusieurs mutations ponctuelles. Elles sont retrouvées chez *Pseudomonas aeruginosa* , *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et chez les autres entérobactéries. [49]

**e) Les céphalosporinases :**Certaines entérobactéries (comme *Klebsiella pneumoniae*) sont naturellement résistantes aux bêta –lactamines par hyper production de céphalosporinases chromosomiques qui sont codées par le gène ampC. [50]

#### **f) Céphalosporinases de haut niveau**

L'enzyme chromosomique de type AmpC (classe C de Ambler) est produite à haut niveau suite à la mutation du gène régulateur AmpD (gène du métabolisme du peptidoglycane) : on parle de mutant déréprimé. Cela confère une résistance à toutes les pénicillines, seules ou en association avec les inhibiteurs, à toutes les céphalosporines et aux céphamycines. Le mécillinam, les C4G et les carbapénèmes ne sont généralement pas touchés [51]. Cette sélection de mutants déréprimés, fréquente, se fait in vivo lors de l'utilisation de C3G sur les entérobactéries du groupe 3. Cette céphalosporinase de type AmpC hyperproduite peut être modifiée, soit par mutation ponctuelle, soit par délétion de plusieurs bases au niveau de la région codante de l'AmpC, ces modifications entraînent une résistance supplémentaire aux C4G comme le céfépime [52].

#### **g) Les carbapénémases**

Les entérobactéries productrices des carbapénémases (EPC) sont des bactéries hautement résistantes aux antibiotiques (BHR). Les carbapénémases conduisent à une inefficacité partielle ou totale à des antibiotiques de la classe des carbapénèmes qui sont des traitements de dernier recours. Les principaux germes produisant des carbapénémases sont surtout : *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes*. [53]

#### **h) BLSE non dérivées des pénicillinases**

Plus récemment, suite à l'apparition de nouveaux gènes transférables au sein d'éléments génétiques mobiles, de nouvelles BLSE non dérivées des pénicillinases ont émergé: des céfotaximases de type CTX-M et des ceftazidimases. Elles sont partiellement inhibées par des inhibiteurs des bêta-lactamases (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam). [48]

### **5.3.2.2. Enzymes inactivant les aminosides**

La résistance aux aminosides chez *Escherichia coli*, les autres entérobactéries, *Acinetobacter sp*, *Pseudomonas aeruginosa* et les BGP, est due à l'inactivation enzymatique ; qui est le mécanisme de résistance le plus important pour cette classe d'antibiotiques. Tous les aminosides possèdent des groupements aminés et des groupements hydroxyles nécessaires à leur activité et ces groupements peuvent être la cible de trois classes d'enzymes : [54]

- Les phosphotransférases (APH) catalysent la phosphorylation des groupements hydroxylés ;
- Les nucléotides-transférases (ANT) catalysent l'adénylation des groupements hydroxylés ;
- Les acétyl-transférases (ACT) catalysent l'acétylation des groupements aminés.

Toutes ces enzymes ont une localisation intracellulaire et peuvent être codées par les gènes chromosomiques, les plasmides, les éléments génétiques transposables ou par les intégrons. Une seule souche peut coder pour plusieurs enzymes, un seul aminoside peut être inactivé par plusieurs enzymes et une seule enzyme peut inactiver plusieurs antibiotiques. [55]

### **5.3.2.3. Enzymes inactivant les phénicolés**

Pour le chloramphénicol et le thiamphénicol, l'inactivation enzymatique est le mécanisme de résistance le plus fréquent, elle est due à l'acétylation par un chloramphénicol acétyl transférase du groupement hydroxyle de la molécule. On a identifié trois enzymes chez les BGN et cinq chez les BGP, à l'exception de *Streptococcus pneumoniae*, ces enzymes sont codées par des plasmides. [41]

### **5.3.3. L'imperméabilité**

C'est un phénomène observé chez les BGN, la structure même de leur paroi et plus particulièrement la présence d'éléments dédiés à la pénétration de molécules exogènes est à l'origine de ce type de résistance. Les structures en cause sont les porines (Omp ou Opr), des canaux aqueux ou hydrophiles, qui laissent diffuser diverses molécules de faible masse moléculaire comme les antibiotiques. [56]

Il existe trois types de porines localisés dans la membrane externe :

- Porines non spécifiques ;
- Porines plus sélectives, impliquées dans la diffusion de sucres ou de métaux ;
- Protéines qui forment des canaux pour l'entrée ou la sortie des diverses molécules.

La diffusion est en fonction de la charge, de la masse moléculaire et de la polarité des molécules. Toute modification du nombre ou de la structure de ces porines affecte la pénétration des antibiotiques et donc leur efficacité en modifiant leur concentration au site d'action. Les antibiotiques concernés diffèrent selon la porine absente ou modifiée ; une mutation modifiant la structure des porines affecte le type d'élément pouvant la traverser tandis que la diminution du nombre de porines incluses dans la paroi limite l'importance du flux les traversant. [57].

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, des études réalisées sur la porine D ont clairement montré le lien entre la sensibilité à l'imipénème et l'expression de cette protéine. [58] Chez *Klebsiella pneumoniae*, il est intéressant de mentionner l'existence d'un résidu tyrosine supplémentaire dans la région interne des porines : ce résidu crée une restriction de la taille du canal via sa chaîne latérale, qui ralentit la pénétration des bêta- lactamines. [59]

#### 5.3.4. Efflux des antibiotiques

Les bactéries peuvent résister aux antibiotiques par exportation active grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux. Ces protéines peuvent être des transporteurs d'antibiotiques spécifiques (gène codant : plasmides ou transposons) et conférer une résistance vis-à-vis d'une seule classe d'antibiotiques ou au contraire responsables de multidrug résistance (MDR) (retrouvé sur élément génétique chromosomique). Pour fonctionner, les pompes d'efflux utilisent l'énergie fournie par dissipation d'un gradient de protons, d'ions sodium ou encore par hydrolyse d'ATP. [60] Selon la source d'énergie utilisée et les critères de taille et de structure protéique, il y a 5 classes : [61]

- **La famille Resistance-Nodulation-cell Division** : chez les bacilles à Gram-, capables d'exporter des molécules de structures différentes et entraîner des résistances multiples aux ATB, ses parties sont codées par des gènes regroupés en opéron sur le chromosome bactérien, ou sur plasmides. [61]
- **La famille Major Faciliator Superfamily** : avec le plus grand nombre de pompes, On décrit la résistance aux fluoroquinolones, aux CHL et aux TCY chez *Staphylococcus aureus*, chez *Pseudomonas aeruginosa*, codé par un gène plasmidique capable d'exporter le CHL. [62] La pompe d'efflux QepA a été décrite chez *E. coli* qui exporte certaines fluoroquinolones [63]
- **La famille Multidrug And Toxic-compound Extrusion** : essentiellement décrits chez des BGN mais il en existe aussi chez des BGP (*Staphylococcus aureus*).
- **La famille ATP –Binding Cassette** : la seule famille de transporteurs utilisant l'énergie issue de l'hydrolyse d'ATP. La plupart de ces transporteurs ont une spécificité de substrat étroite. C'est le cas de la résistance à la CLI conférée par le transporteur Lsa d'*Enterococcus faecalis*.
- **La famille Small Multidrug Resistance** : constitue une sous –famille de la famille DMT (Drug Métabolite Transporteur).

#### 5.4. Autres types de résistances bactériennes

##### 5.4.1. Résistances croisées

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 (résistance inductible). Ce phénomène peut survenir parmi tous les membres d'une classe d'antibiotiques (cas des sulfamides), ou être limité à quelques membres d'un groupe (les aminoglycosides) ou encore impliquer des antimicrobiens appartenant à des classes différentes. Une résistance croisée est observée :

-Lorsque plusieurs antibiotiques utilisent la même cible, ex : les macrolides, les lincosamides et les streptogramines B agissent tous sur le ribosome, une seule mutation au niveau de la sous –unité 50S de l'ARNr provoque une résistance de haut niveau aux trois antimicrobiens.

-En présence de pompes à efflux non spécifiques exportent activement en dehors de la bactérie une grande variété de substrats aux structures chimiques souvent très différentes ;

-Dans le cas d'inactivations enzymatiques efficaces sur différentes classes d'antibiotiques, comme l'acétylation de certains aminoglycosides et de certaines fluoroquinolones par l'enzyme AAC(6')-Ib-cr.

-Les mutations dans les topoisomérases de type II et IV et l'ADN gyrase, conférant la résistance aux fluoroquinolones ou la résistance aux 4-6desoxystreptamines par méthylation de l'ARN 16S.

La conséquence majeure de la résistance croisée est la sélection croisée : n'importe quel antibiotique de la classe peut sélectionner des bactéries résistantes à tous les autres membres. [64]

#### **5.4.2.Co-résistance**

La co-résistance est 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. [59]

#### **5.4.3.Co-sélection**

Elle définit la sélection d'un microorganisme résistant à un antibiotique lors d'une exposition à un autre agent antimicrobien. Elle résulte des phénomènes de résistance croisée et de co-résistance.

En fait, l'opéron responsable de la résistance à la vancomycine est lié génétiquement, sur un plasmide conjugatif, à un gène de résistance aux macrolides, dont il résulte une co-sélection de résistance aux glycopeptides lors de l'utilisation de macrolides. La présence de certains antibiotiques dans l'environnement peut parfois faciliter le transfert de gènes de résistance, ainsi des concentrations sub-inhibitrices de pénicilline favorisent le transfert conjugatif de plasmides entre différentes espèces de coques Gram+ et chez *Bacteroides* sp. [65]

### **5.5. Les multi-résistances**

On parle de multi résistance face à une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques, habituellement actifs en thérapeutique (*ex : Acinetobacter* sp) et concerne aussi bien les BGP que les BGN.

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsqu'elles sont résistantes à plus de 3 familles différentes d'ATB.[66] , parmi les BMR on cite :

#### **5.5.1. Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM)**

Cette résistance est conférée par l'acquisition d'une cassette chromosomique SCCmec portant le gène mecA, qui code une protéine membranaire additionnelle (PLP2a) dont l'affinité pour les bêta-lactamines est très faible, entraînant une résistance croisée à toutes les molécules de cette famille. [67]

#### **5.5.2. Staphylococcus aureus de sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA)**

Ce sont des modifications concernant la structure de la paroi bactérienne, dont la composition biochimique comporte de multiples anomalies sans qu'aucune ne semble spécifique à ces souches. [68] La possibilité de développement d'un haut niveau de résistance aux glycopeptides de *Staphylococcus aureus* par acquisition du gène vanA s'est faite à partir d'une souche d'entérocoque dans le cadre de plaies chroniques mixtes à *Enterococcus faecium* ayant un plasmide Inc-18\_like vanA et à *Staphylococcus aureus* ayant un plasmide psk 41-like qui favorisent le transfert génétique inter-espèce de vanA. En dépit des certitudes, seules des rares souches de *Staphylococcus aureus* ont acquis l'opéron vanA (tous des SARM) et elles n'ont pas déssimulé. [69]

#### **5.5.3. Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV)**

Chez les entérocoques naturellement résistants à la vancomycine (*Enterococcus gallinarum*, *E. casseliflavus* et *E. flavescens*), le D-Alanyl-D-Alanine, site normal de fixation des glycopeptides, est remplacé par du D-Alanyl-D-Serine, dipeptide ayant moins d'affinité pour la vancomycine, mais une affinité normale pour la teicoplanine. Ce mécanisme est codé par le gène van. [70]

#### **5.5.4. Pseudomonas aeruginosa multi-résistant (PAR)**

Elle est dite multi résistante lorsqu'elle est résistante à au moins trois classes d'antibiotiques actifs sur les souches sauvages : les bêta-lactamines hors carbapénèmes, les fluoroquinolones et les aminosides. [71]. Le haut niveau de résistance aux fluoroquinolones, est attribué à l'association de 2 mécanismes :

- Les changements structuraux dans les enzymes ADN gyrases et topoisomérases IV par des mutations ponctuelles, qui représentent les cibles des fluoroquinolones ;
- La surproduction des pompes d'efflux.

La production simultanée d'une méthylase de l'ARN 16S et d'une t métallo-bêta-lactamase a donc pour conséquence de rendre les souches résistantes à presque tous les aminosides tous les bêta-lactamines. [72]

#### **5.5.5. Acinetobacter baumannii multi-résistant (ABR)**

*A. baumannii* est considéré comme multi-résistant si la souche identifiée est résistante ou intermédiaire à au moins trois des familles d'antibiotiques suivantes : pénicillines à spectre élargi

combinées à un inhibiteur de béta- lactamases, tétracyclines , C3H ou C4G ( ceftazidime, cefepime et ceftriaxone), fluoroquinolones (ciprofloxacine), SXT , aminoglycosides et carbapénèmes .

Différents mécanismes de résistance ont été décrits : [73]

-Acinetobacter sp présente une résistance naturelle avec production de céphalosporinases chromosomique (béta-lactamase de type AmpC) qui épargne les céphalosporines à large spectre ;

-production des pénicillinases et béta- lactamases à spectre étendu ;

-Acinetobacter baumannii présente une résistance élevée aux carbapénèmes suite à l'imperméabilité naturelle et à la production des oxacillinases et des métallo-béta-lactamases ;

-La résistance aux aminosides par l'acquisition de plasmides ou transposons ;

-La résistance aux fluoroquinolones par mutations de l'ADN gyrase et la topoisomérase IV ;

-La résistance à la polymyxine est liée a des altérations du lipopolysaccharides et de la membrane bactérienne externe. [74]

## **6. Facteurs responsables de l'augmentation de la résistance aux antibiotiques**

- a) Pression sélective exercée par l'utilisation d'ATB : favorise la survie des bactéries ayant acquis une résistance aux ATB et qui transmettent à leur descendance leurs gènes de résistance.[75]
- b) Sur-utilisation des antibiotiques : les pratiques médicales inappropriées sont souvent favorisées par l'incertitude du diagnostic, le manque d'opportunité pour le suivi des patients, le manque de connaissances sur les traitements optimaux. [76]
- c) Certains comportements des patients notamment l'automédication et le non-respect des traitements recommandés.
- d) Utilisation massive des antibiotiques en milieu hospitalier.
- e) Dissémination internationale de clones épidémiques résistants : La fréquence de voyages internationaux, le commerce et le tourisme médical.
- f) Utilisation des antibiotiques dans l'industrie agroalimentaire : L'utilisation de divers agents antimicrobiens chez les animaux, que ce soit pour usage thérapeutique ou comme facteur favorisant la croissance, peut conduire au développement de micro-organismes résistants aux agents antimicrobiens qui sont ensuite transmis à l'homme. [77]

---



*Partie Pratique*

## **1. Méthodes**

### **1.1. Type d'étude**

Il s'agit d'une étude rétrospective à visée descriptive, durant une année, du 1 Janvier 2018 au 31 décembre 2018, basée sur l'interprétation des résultats des hémocultures à partir du logiciel WHONET 2018, des registres des archives du laboratoire de microbiologie du CHU à Tizi-Ouzou, Unité Nedir Mohammed.

#### **1.1.1. Les variables recueillies**

- Fréquence des hémocultures.
- Répartition des hémocultures positives en fonction du: sexe, l'âge du patient, les services, des germes isolés.
- Nombre et pourcentage des résistances aux antibiotiques des isolats.

#### **1.1.2. Critères d'inclusion**

Cette étude inclut tous les isolats d'hémoculture validés par le biologiste et communiqués au clinicien au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi-ouzou.

#### **1.1.3. Critères d'exclusion**

Cette étude exclut les résultats du VITEK à cause des difficultés de transfert des données ainsi que les résultats d'EHS Sbihi.

### **1.2. Objectifs de l'étude statistique**

- Détermination du nombre et pourcentage des résistances aux antibiotiques des germes isolés dans l'hémoculture et leur prédominance en fonction des services du CHU de Tizi-ouzou durant l'année 2018.
- Détermination du nombre et pourcentage des hémocultures positives selon l'âge et le sexe des patients reçus durant cette période.
- Déterminer le taux des différents marqueurs de résistance (BLSE) et (SARM) des bactéries isolées des hémocultures.

- Faire une étude comparative des taux de résistance aux antibiotiques durant les trois dernières années (2016, 2017 et 2018), au niveau du CHU de Tizi-ouzou et au niveau national.

## 2. Matériels

### 2.1. Les registres des hémocultures 2018

Lors de notre étude rétrospective, nous avons exploré les registres d'hémoculture pour déterminer le nombre des patients présentant des hémocultures positives durant l'année 2018, et aussi pour faire une répartition des hémocultures positives selon l'âge et le sexe durant la même période.

### 2.2. Le logiciel WHONET

#### 2.2.1. Présentation de WHONET

WHONET est un logiciel libre développé par le Centre collaborateur de l'OMS pour la gestion et l'analyse des résultats microbiologiques en laboratoire, permettant l'amélioration de la qualité en laboratoire, le contrôle des infections et préparation aux épidémies, la surveillance de la résistance aux antibiotiques et l'évaluation des interventions.

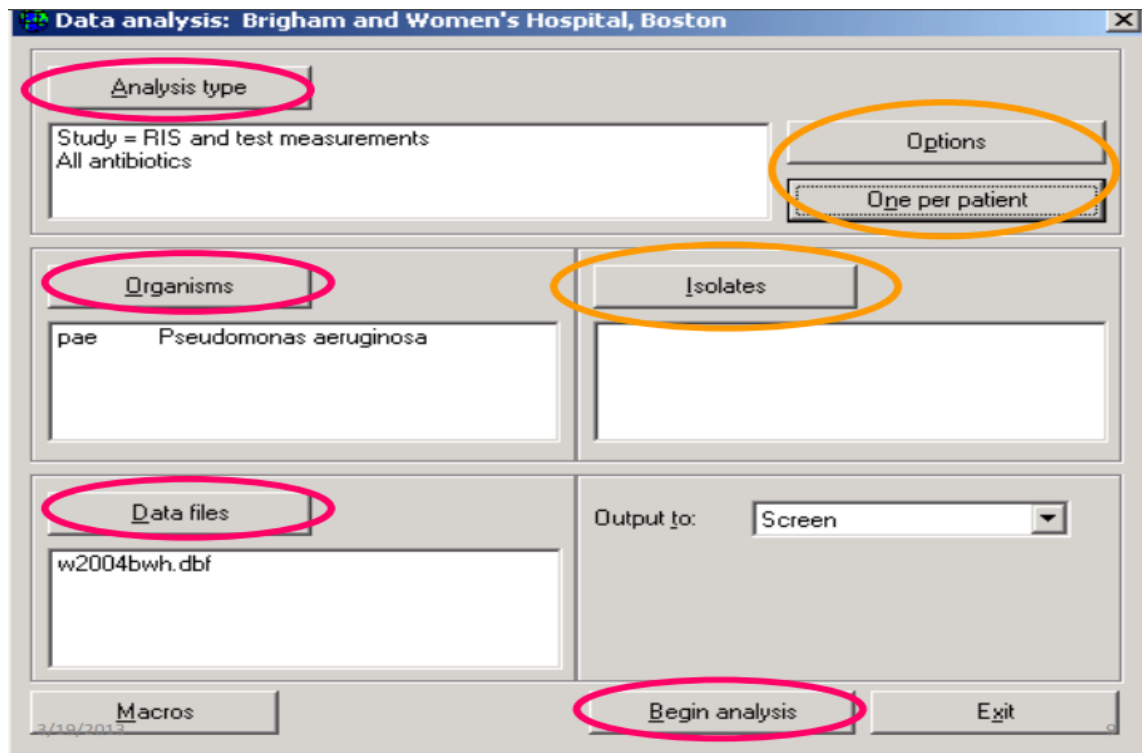


Figure 5: Gestion et analyse des résultats avec WHONET [82]

### **2.2.2. Les principaux objectifs du logiciel**

- Améliorer l'utilisation locale des données de laboratoire : Politique antimicrobienne, contrôle des infections.
- Promouvoir la collaboration nationale par l'échange des données. Pour cela l'OMS a recommandé une standardisation des techniques de réalisation de l'antibiogramme, ces techniques sont préconisées par CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute) et sont adoptées par le Centre Algérien de la Surveillance des Résistances aux Antibiotiques (AARN), qui peuvent être utilisés par les laboratoires individuels ou dans le cadre d'un réseau de surveillance nationale et internationale.

### **2.2.3. Les avantages de WHONET**

- La compréhension de l'épidémiologie locale des populations microbiennes.
- La sélection d'agents antimicrobiens.
- L'identification des foyers de la communauté et l'hôpital.
- La reconnaissance des problèmes d'assurance de la qualité dans les tests de laboratoire.

### **2.2.4. Les applications de WHONET**

- Configuration de laboratoire.
- La saisie des données.
- L'analyse des données.

## **2.3 Microsoft office Excel 2007**

Nous avons utilisé l'Excel pour l'insertion des tableaux, des figures, et la réalisation des différents calculs de la partie pratique.

## 1. Résultats de l'étude des hémocultures positives et négatives

### 1.1. Comparaison de nombre des hémocultures par rapport aux autres examens microbiologiques réalisés au laboratoire

Tableau 6 : Nombres des examens microbiologiques réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie.

Type d'examen	ECBU	Hémoculture	Pus-ponction	Sphère ORL	Coproculture
Nombre d'examen	11508	4358	2702	751	664

Interprétation: Durant notre étude on a remarqué que l'hémoculture est l'examen demandé en deuxième position après l'ECBU, il vient ensuite l'examen de pus-ponction qui est assez recommandé, et en dernier les examens de sphère ORL suivi par la coproculture.

### 1.2. Nombre des hémocultures positives et négatives au niveau du laboratoire

Tableau 7 : Nombres des hémocultures positives et négatives.

Résultat	Nombre d'hémoculture	Pourcentage (%)
Négatif	4018	92.2
Positif	340	7.8
Total	4358	100

Interprétation : On remarque que le pourcentage d'hémocultures négatives (92.2%) est plus élevé par rapport à celui des hémocultures positives (7.8%).

### 1.3. Répartition des hémocultures positives selon le sexe

Tableau 8 : Nombres et pourcentages des hémocultures positives selon le sexe

Sexe	Nombre	Pourcentage (%)
Femme	164	48
Homme	176	52
Total	340	100

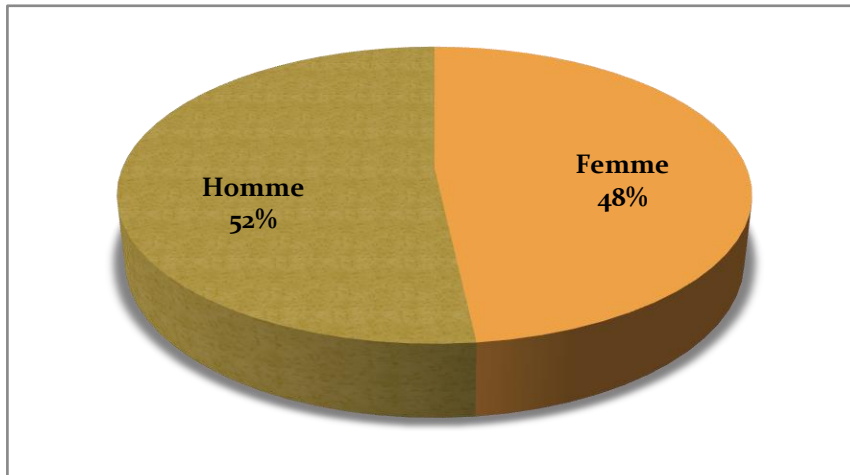


Figure 6 : Pourcentages des hémocultures positives selon le sexe.

Interprétation: Sur 340 patients qui ont une hémoculture positive, 176 sont de sexe masculin (51,76%) et 164 sont de sexe féminin (48,24%). Donc un sexe ratio de 1.07 cas masculin pour un cas féminin.

#### 1.4. Répartition des hémocultures positives selon l'âge

Tableau 9: Nombres et pourcentages des hémocultures positives selon l'âge.

L'âge	Nombre de patients	Pourcentage (%)
Adulte	227	67
Enfant	113	33
Total	340	100

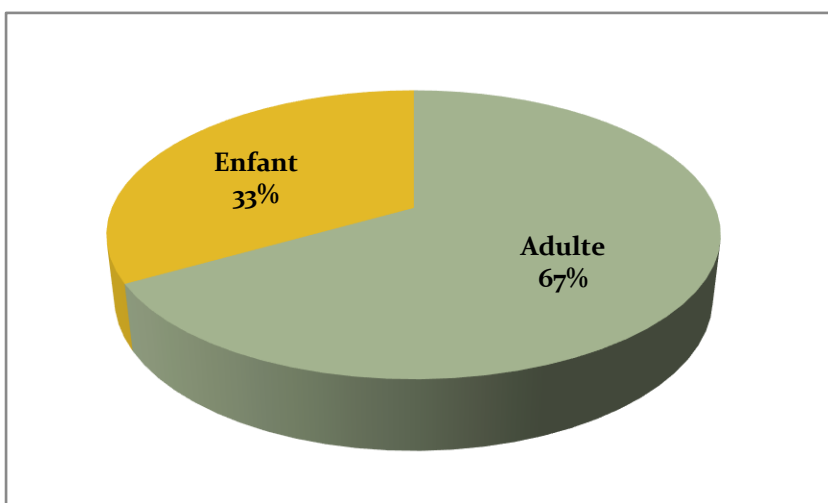


Figure 7 : Pourcentages des hémocultures positives selon l'âge.

Interprétation : Les examens bactériologiques des hémocultures pendant l'année 2018, révèlent un taux de positivités de 67% chez les adultes, qui est plus élevé comparé à celui enregistré chez les enfants [1 jour -15ans] avec un pourcentage de 33%.

### **1.5. Répartition des hémocultures positives selon les services**

Tableau 10 : Répartition des échantillons selon les services de provenance.

Services		Nombre	Pourcentage %	Nombre total	%total
Spécialités médicales	hématologie	63	18.5%	223	65.5%
	Infectiologie	57	16.7%		
	réanimation	19	5.6%		
	Néphrologie	13	3.8%		
	cardiologie	7	2%		
	Urologie	2	0,5%		
	Traumatologie	0	0%		
	Gastroentérologie	0	0%		
	pédiatrie néonatale	62	18.2%		
Urgences	Médicales	23	6,7%	63	18.5%
	Chirurgicales	6	1.7%		
	Urgences pédiatrie	34	10%		
Spécialités chirurgicales	chirurgie	3	0,9%	5	1.5%
	neurochirurgie	1	0,3%		
	Chirurgie infantile	1	0,3%		
Services non déterminés		49	14.4%	49	14.5%
<b>Total</b>		340	100%	340	100%

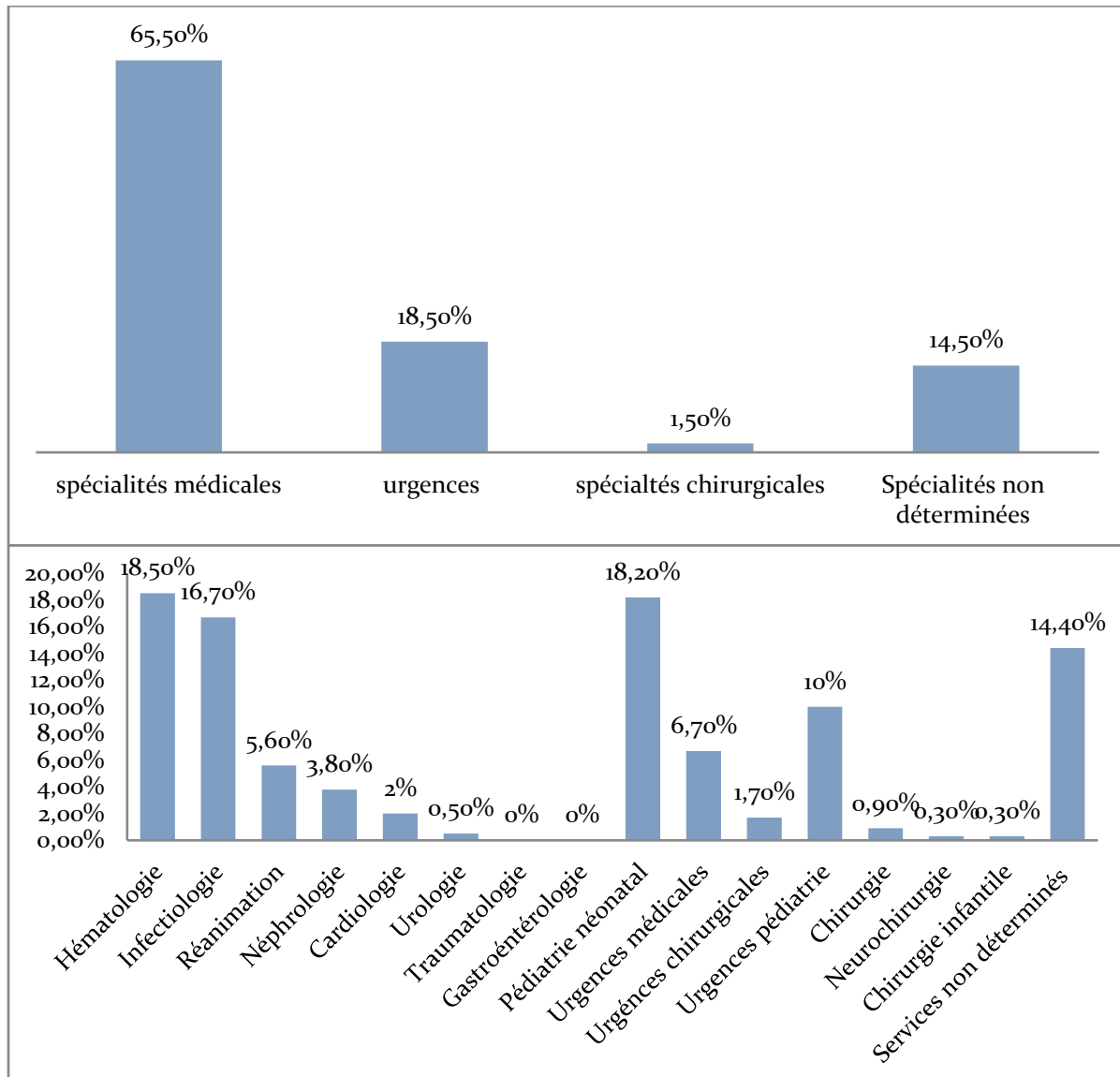


Figure 8 : Répartition des échantillons selon les services de provenance.

### Interprétation

Sur 340 hémocultures positives, le taux d'isolement le plus élevé a été recensé dans les services de spécialités médicales avec un taux d'isolement de 65.5% dont les services les plus demandeurs : services hématologie (18.5%), pédiatrie néonatale (18.2%) et infectiologie (16.7%) suivi par réanimation (5.6%), néphrologie (3.8%) et cardiologie (2%).

Des taux plus faibles ont été observés dans les spécialités d'urgences (18.5%) à savoir les urgences pédiatriques (10%), urgences médicales avec (6.7%) et les urgences chirurgicales avec (1.7%).

Les spécialités chirurgicales ont enregistré les taux les plus faibles à l'ordre de 1.5%.

## 2. Fréquence d'isolement des bactéries de Gram négatif et Gram positif

Tableau 11 : pourcentage et nombre des bactéries à Gram négatif et Gram positif isolés des hémocultures.

Classes	Bactéries	Nombre	Pourcentage%	Nombre total	% total
Bacilles Gram négatif fermentaires	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	45	13%	160	47%
	<i>Escherichia coli</i>	36	11%		
	<i>Serratia marcescens</i>	20	6%		
	<i>Enterobacter cloacae</i>	20	6%		
	<i>Klebsiella sp</i>	15	4,4%		
	<i>Salmonella sp</i>	7	2%		
	<i>Serratia sp</i>	5	1,4%		
	<i>Enterobacter sp</i>	4	1,2%		
	<i>Proteus sp</i>	4	1,2%		
	<i>Salmonella typhi</i>	3	1%		
	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	0,3%		
Bacilles Gram négatif non fermentaires	<i>Acinetobacter baumannii</i>	15	4,4%	34	10%
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	4%		
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6	1,8%		
Autres BGN		47	13,8%	47	13,8%
Bactéries Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	44	13%	99	29%
	<i>Streptococcus sp</i>	32	9%		
	<i>Enterococcus sp</i>	17	5%		
	<i>Staphylococcus sp</i>	5	1,5%		
	<i>Streoyococcus pneumoniae</i>	1	0,3%		
Total		340		100%	

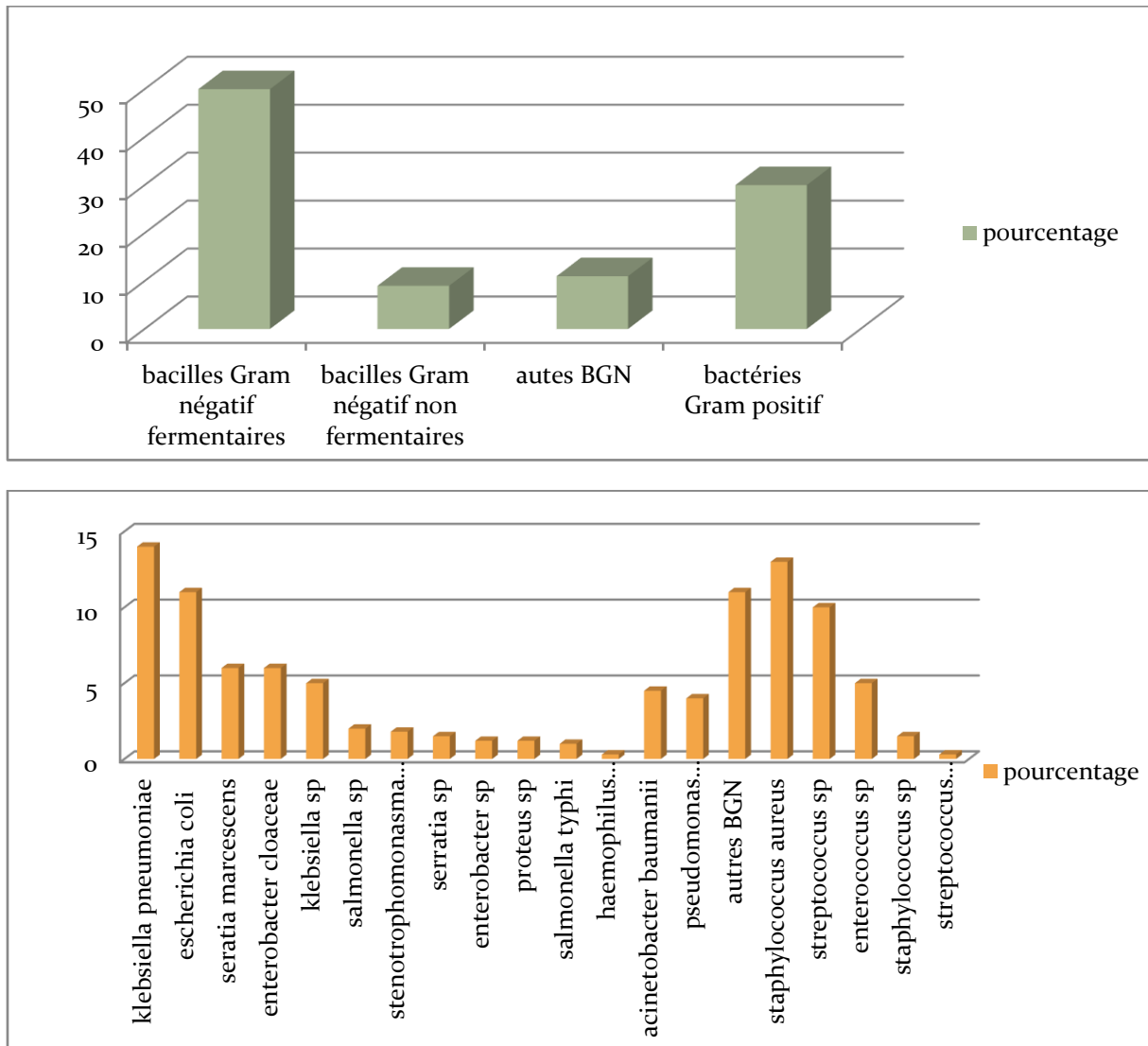


Figure 9 : Répartition des échantillons selon les germes isolés

### Interprétation

Dans 340 des germes isolés à partir des hémocultures on a constaté que les bacilles Gram négatifs ont été les plus isolés avec un taux de 70,8% (BGN fermentaires avec 47% et les BGN non fermentaires avec 10% et des autres BGN non identifiés avec 13.8%) opposant aux bactéries Gram positif avec un taux de 29%. Dans la répartition des bactéries à gram négatif isolés des hémocultures, les entérobactéries viennent largement en tête (47%) avec :

-*Klebsiella pneumoniae* (13%)

- *Escherichia coli* (11%)

-*Serratia marcescens* (6%) et *Enterobacter cloaceae* (6%)

-7 souches uniquement ont été isolées de *Salmonella sp* dont 3 souches sont des *S.typhi*. Ces entérobactéries sont suivies des germes de l'environnement (8.4%) : *Acinetobacter baumanii* (4,4%) et *Pseudomonas aeruginosa* (4%) et des autres BGN non identifiés avec 13.8%.

Concernant les bactéries à Gram positif, on a retrouvé 99 souches isolées ; l'espèce *Staphylococcus aureus* occupe le premier rang avec 13% des isolats pour 44 souches isolées et *Streptococcus sp* occupe le deuxième rang avec 9% des isolats ensuite *Enterococcus sp* avec 5%.

Durant l'année 2018 qui a fait l'objet de notre étude seulement 1 souche de *Streptococcus pneumoniae* a été isolée.

### 3. Résultats des résistances aux antibiotiques

#### 3.1. Résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae*

Tableau 12 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques.

Antibiotique	Nombre	Nombre total	Pourcentage (%)
AMC	23	33	69,7
AMK	0	29	0,0
ATM	6	11	54,5
CAZ	6	7	85,7
CHL	3	39	7,7
CIP	13	39	33,3
COL (CMI)	0	18	0,0
CRO	18	21	85,8
CTX	19	21	90,5
CZO	35	36	97,2
ERT	2	17	11,8
FOS	0	8	0,0
FOX	5	20	25,0
GEN	13	21	61,9
IPM	4	19	21,1
NAL	2	8	25,0
NIT	11	21	52,4
SXT	22	30	73,3

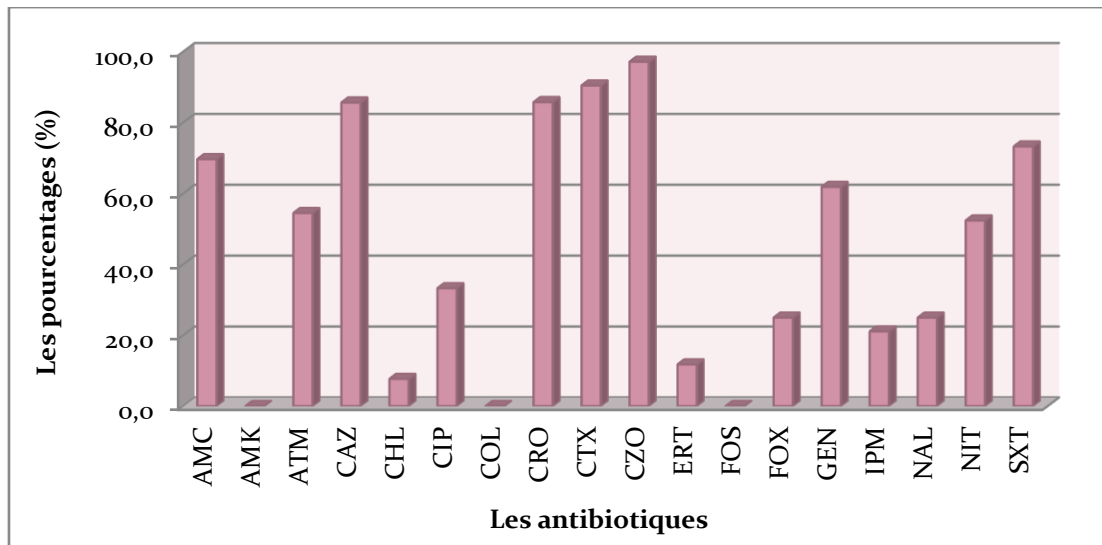


Figure 10 : Pourcentages des résistances des souches de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques.

Interprétation :

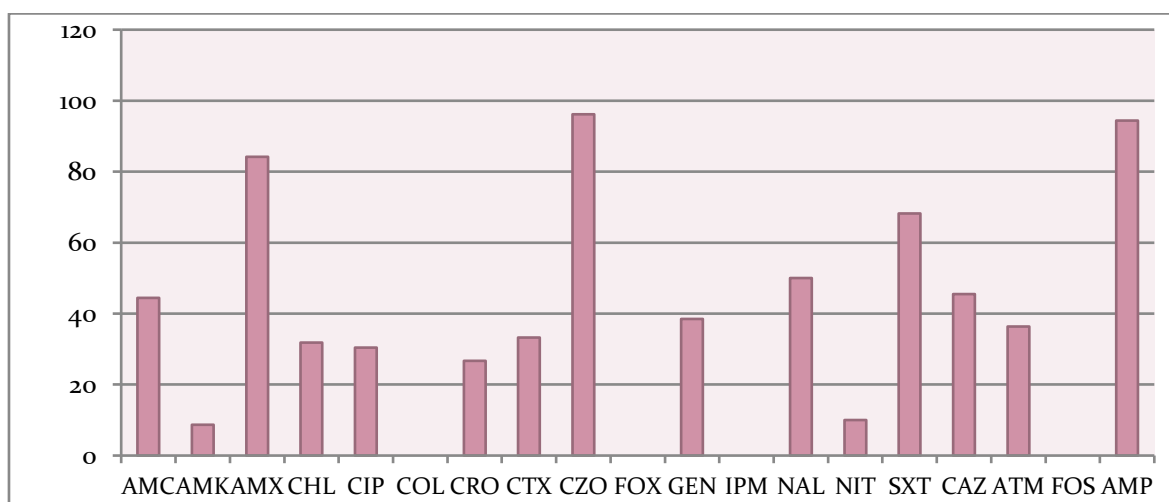
Les nombres et pourcentages des résistances de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques, montrent que les souches ont une résistance très élevée avec les antibiotiques de C1G (CZO) à 97.2%, les C3G (CTX), (CRO), (CAZ) au environ 85% à 90%, les oxapénème (AMC) à 69.7% et des monobactames (ATM) à 54.5%. Cette résistance est moins élevée avec la céfamycine (FOX) à 25% suivi par (IPM) à 21.1% et (ERT) à 11.8%.

En ce qui concerne les autres ATB, on remarque une résistance notamment importante avec (GEN) à 61.9%, la (SXT) à 73.3% et (NIT) à 52.4%, avec les quinolones la résistance est un peu moins élevée (CIP) à 33.3%, avec (NAL) à 25%.

Par contre les souches sont faiblement résistantes au (CHL) à 7.7%, et 100% sensibles à la (COL), la (FOS) et l'(AMK).

**3.2. Résistance des souches d'*E.coli***Tableau 13 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches d'*E.coli* aux antibiotiques.

ATB	Nombre	Total	Pourcentages (%)
AMC	12	27	44,4
AMP	17	18	94,4
AMX	16	19	84,2
ATM	4	11	36,4
CHL	7	22	31,8
CIP	7	23	30,4
COL	0	18	0
CRO	4	15	26,7
CTX	5	15	33,3
CZO	25	26	96,2
FOX	0	20	0
GEN	5	13	38,5
AMK	2	23	8,7
IPM	0	18	0
NAL	4	8	50
NIT	1	10	10
SXT	15	22	68,2
CAZ	5	11	45,5
FOS	0	8	0

Figure 11 : Pourcentages de résistances (R+I) des souches d'*E.coli* aux antibiotiques en 2018.

Interprétation

Des résistances élevées sont enregistrées avec AMX 84%, AMC 44% ,CZO 96% ,CAZ 45.5%, CRO 26.7% , CTX 33% , ATM 36% , le triméthoprime /sulfaméthoxazole (68%), NAL 50% CIP 30.4% GEN 38.5% AMK 8.7% et avec CHL30%. Pour les nitrofuranes , 10% de souches sont résistantes à la nitofurantoïne .

Par contre, des résistances nulles sont obtenues avec la colistine, quelques bêta-lactamines (la céfoxitine , l'imipénème) et la fosfomycine .

**3.3. Résistances des souches de *Enterobacter cloacae***

Tableau 14 : Nombre et pourcentages des résistances (R+I) des souches d'*Enterobacter cloacae* aux antibiotiques en 2018.

Code	Nombre	total	Pourcentages (%)
ATM	0	2	0,0
CAZ	0	7	0,0
CHL	1	14	7,1
CIP	3	18	16,7
COL	0	11	0,0
CRO	8	11	72,7
CTX	4	5	80,0
ETP	0	9	0,0
FOS	0	1	0,0
GEN	2	6	33,3
IPM	1	10	10,0
NAL	2	7	28,6
NIT	7	7	100,0
SXT	4	11	36,4
AMK	1	13	7,7

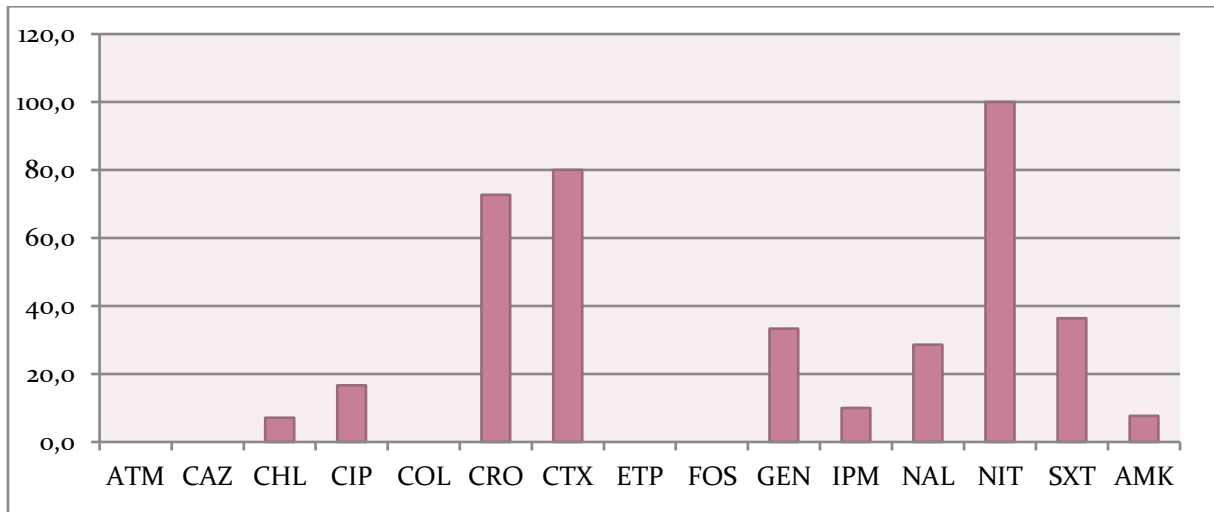


Figure 12 : Pourcentages des résistances (R+I) des souches des *Enterobacter cloacae* aux antibiotiques en 2018.

### Interprétation

Des résistances élevées ont été constatées avec la plupart des betalactamines testées : CTX(80%) et la CRO 72,7%) et IPM (10%) ,en revanche ,des résistances nulles sont notées avec l'Aztréonam, la Céfotazidime, et l'Ertapenem .

Des résistances élevées sont observées avec NIT100% le SXT (36,4%) et les aminoglycosides (GEN (33,3%, AMK 7,7 % ). Des résistances moins élevés sont observées avec les quinolones :(NAL 28.6%) CIP16,7 %) et les phénicolés( CHL 7,1%).

Des résistances nulles sont enregistrées pour la Colistine et la Fosfomycine.

### 3.4. Résistances des souches de *Serratia marcescens*

Tableau 15 : Nombre et pourcentages des résistances (R+I) des souches de *Serratia marcescens* aux antibiotiques en 2018.

ATB	nombres	total	Pourcentages (%)
AMK	0	9	0,0
ATM	0	9	0,0
CAZ	1	4	25,0
CHL	5	9	55,5
CIP	0	14	0,0
CRO	3	6	50,0
CTX	2	11	18,2
ETP	0	8	0,0
FOS	0	3	0,0
FOX	1	6	16,7
GEN	1	6	16,7
IPM	1	12	8,3
FOX	1	6	16,7
NAL	1	5	20,0
NIT	8	8	100,0
SXT	3	16	18,8

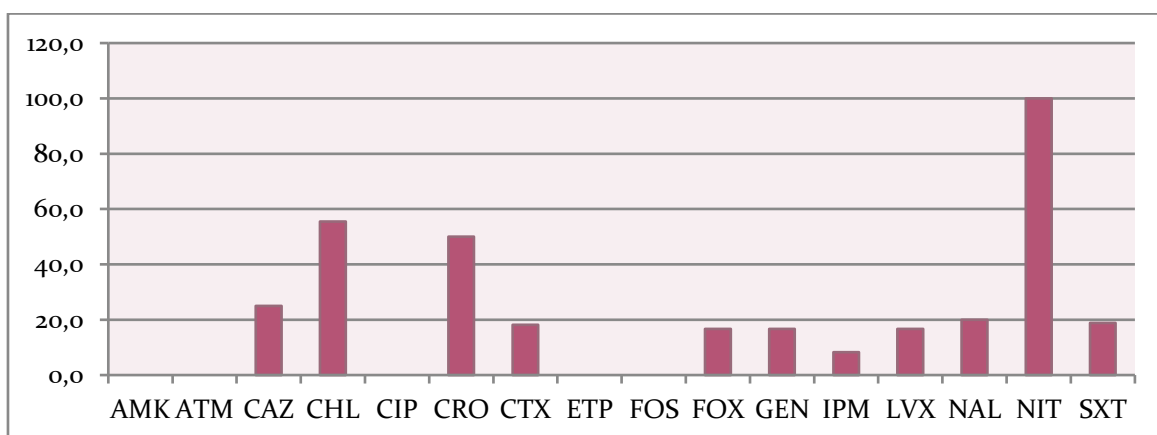


Figure 13 : pourcentages des résistances (R+I) des souches de *Serratia marcescens* aux antibiotiques en 2018.

Interprétation

Les résistances des souches de *S. marcescens* montrent des résistances avec CRO 50%, CAZ 25%, CTX 18.2%, FOX 16.7% et l'Imipenem 8,3%. Pour les furanes, des résistances maximales ont été rapportées (NIT : 100%) cependant elles sont de valeur 55,5% avec les phénicolés(CHL).

Des résistances nulles (sensibilités à 100%) sont enregistrées avec, l'ertapenem, l'aztréonam, la ciprofloxacine, et l'amikacine.

**3.5. Résistances des souches de *Proteus sp***

Tableau 16 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de *Proteus sp* aux antibiotiques.

Antibiotique	Nombre	Nombre total	Pourcentage (%)
AMC	0	3	0,0
AMK	1	2	50,0
AMP	1	1	100,0
AMX	2	3	66,7
ATM	1	2	50,0
CAZ	0	2	0,0
CEP	0	1	0,0
CHL	1	2	50,0
CIP	0	2	0,0
CTX	0	2	0,0
CZO	2	2	100,0
FOS	0	1	0,0
FOX	0	2	0,0
GEN	1	1	100,0
IPM	0	1	0,0
SXT	2	3	66,6

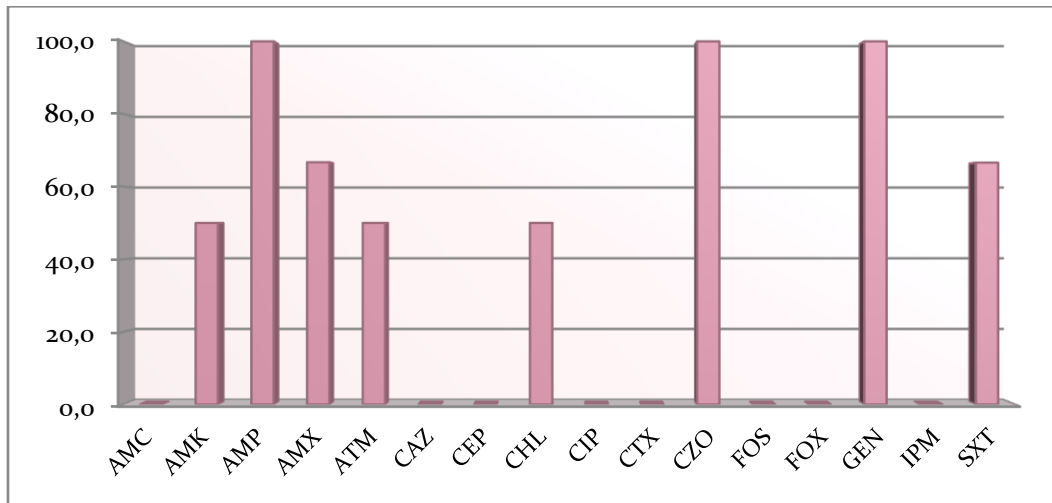


Figure 14 : Pourcentages des résistances des souches de *Proteus sp* aux antibiotiques.

### Interprétation

Les nombres et pourcentages des résistances des *Proteus sp* aux antibiotiques, montrent que les souches ont une résistance totale de 100% avec (AMP), (CZO), (GEN) et une résistance élevée avec (AMX) à 66.7%, (ATM), (AMK) et (CHL) à 50% et les sulfamides-thriméthoprimes (STX) à 66.6%.

Les souches des *Proteus sp* sont sensibles aux (AMC), C1G (CEP), C2G (FOX), C3G (CAZ), (CTX), (IPM), aux (CIP) et à la (FOS).

### 3.6. Résistances des souches de *Acinetobacter Baumanii*

Tableau 17 : Nombres et pourcentages des résistances des souches d'*Acinetobacter baumanii* aux antibiotiques en 2018.

ATB	nombre	total	Pourcentages (%)
AMK	7	9	77,8
CAZ	14	14	100,0
CIP	9	9	100,0
COL	0	10	0,0
DOX	9	10	90,0
GEN	8	8	100,0
IPM	10	11	90,9
LVX	6	6	100,0
PIP	13	13	100,0
SXT	6	7	85,7
TCC	11	11	100,0
TIC	10	10	100,0
TOB	10	13	76,9

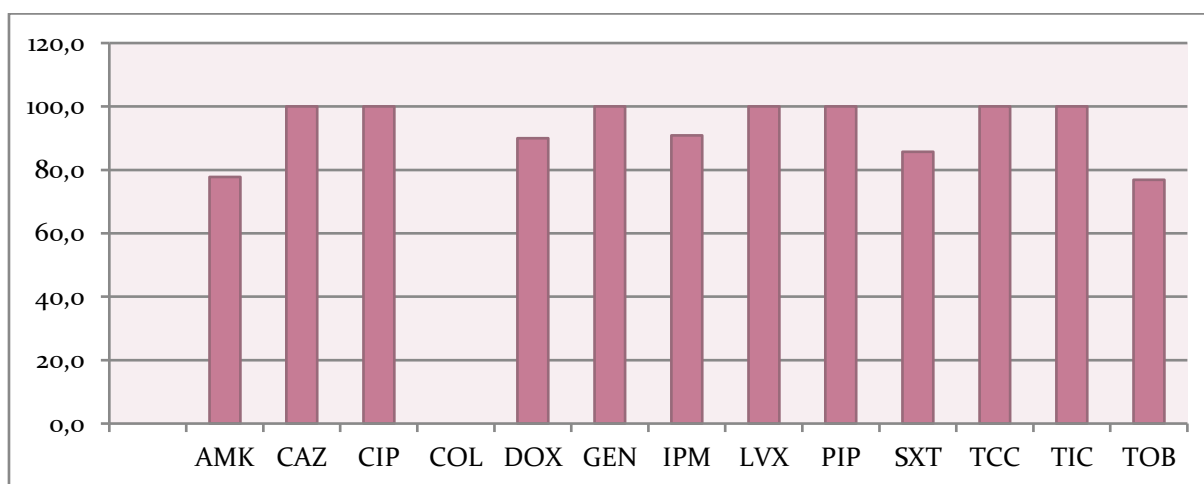


Figure 15 : Pourcentages des résistances (R+I) des souches d'*Acinetobacter baumanii* aux antibiotiques en 2018.

#### Interprétation

Des résistances maximales (100%) sont obtenues avec :

la piperacilline , Ticarcilline/Acide clavulanique , la Ticarcilline et la céftazidime( C3G ) ,mais pour l'IPM : 90,9% .De même , des résistances élevées sont observées avec : AMK 77,8%, GEN :100% , TOB :76,9% , LVX :100%, CIP 100% ,la DOX 90% et aussi le SXT (85,7%) . En revanche, avec la colistine des résistances nulles sont constatées.

### **3.7. Résistances des souches *Pseudomonas aeruginosa***

Tableau 18 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques.

Antibiotique	Nombre	Nombre total	Pourcentage (%)
AMK	0	5	0,0
ATM	1	3	33,3
CAZ	0	13	0,0
CIP	0	9	0,0
COL	0	7	0,0
GEN	0	4	0,0
IPM	0	9	0,0
LVX	0	8	0,0
PIP	3	12	25,0
TCC	6	13	46,2
TIC	3	10	30,0
TOB	0	12	0,0

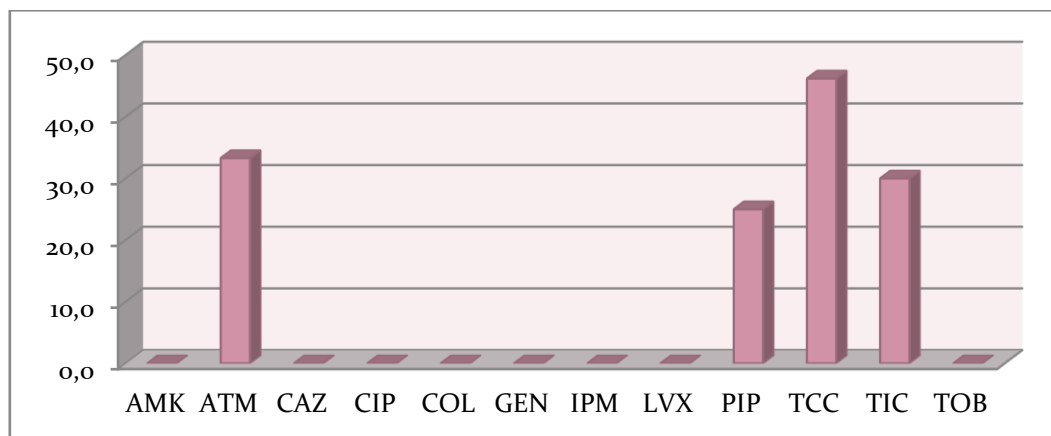


Figure 16 : Pourcentages des résistances des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques.

## Interprétation

Les nombres et pourcentages des résistances de *Pseudomonas aeruginosa*, montrent qu'elles ont une résistance élevée avec (TCC) à 46.2%, (ATM) à 33.3%, (TIC) à 30% et (PIP) à 25%.

Par contre *Pseudomonas aeruginosa* est 100% sensible aux C3G (CAZ), l'(IPM), les aminosides (AMK), (GEN), (TOB), la(CIP), (LVX) et la (COL).

### **3.8. Résistance des souches de *Staphylococcus aureus***

Tableau 19 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

Antibiotique	Nombre	Nombre total	Pourcentage (%)
AMK	2	26	7,7
PEN	33	36	91,7
CHL	0	23	0,0
CIP	4	25	16,0
CLI	7	42	16,7
DOX	2	9	22,2
ERY	18	42	42,9
FOS	0	17	0,0
FOX	5	30	16,7
FUS	9	39	23,1
GEN	2	23	8,7
KAN	13	41	31,7
LVX	2	24	8,4
OFX	3	27	11,1
PRI	0	31	0,0
RIF	4	35	11,4
SXT	2	30	6,7
TCY	6	17	35,3
TEC	0	39	0,0
VAN	0	36	0,0

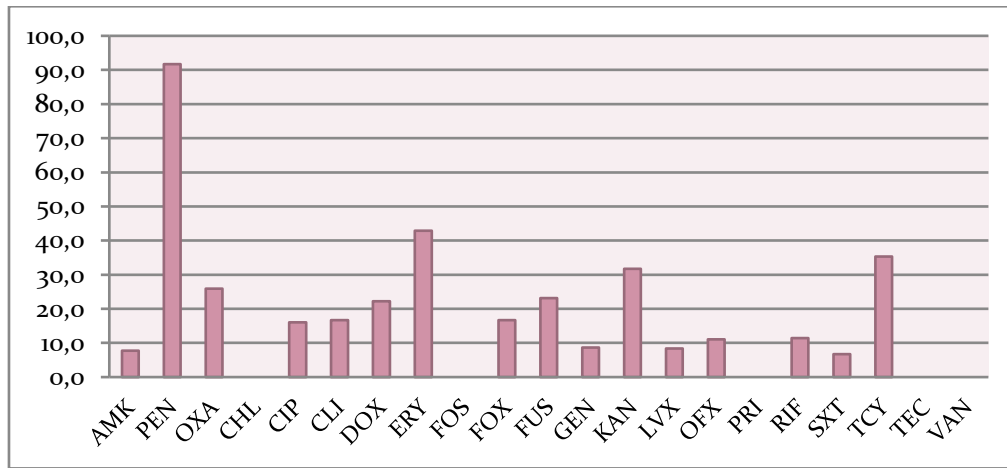


Figure 17 : Pourcentages des résistances des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques.

### Interprétation

Les nombres et pourcentages des résistances de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques, montrent que les souches ont une résistance élevée avec (PEN) à 91.7%, (FOX) à 16.7%, des quinolones (CIP) à 16%, (OFX) à 11.1% et (LVX) moins élevée à 8.7%, des macrolides (ERY) à 42.9%, des tétracyclines (TCY) à 35.3% (DOX) à 22.2%, ainsi avec l'acide fusidique (FUS) à 23.1% et les rifamycines (RIF) à 11.4 %.

Avec les aminosides, on note une résistance élevée avec (KAN) à 31.7% et moins élevée avec (GEN) et (AMK) avoisinant les 8%.

Les résistances sont faibles avec (AMX) à 7.7% et (SXT) à 6.7 %.

Par contre les souches de *Staphylococcus aureus* sont 100% sensibles aux (CHL), streptogramines (PRI/QD), à la (FOS) et glycopeptides (VAN) et (TEC).

### 3.9 Résistance des souches de *Staphylococcus à coagulase négative*

Tableau 20 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de *Staphylococcus à coagulase négative* aux antibiotiques isolées d'hémocultures.

Antibiotique	Nombre	Nombre total	Pourcentage (%)
AMK	5	8	62,5
PEN	7	7	100,0
CHL	2	4	50,0
CIP	6	8	75,0
CLI	3	10	30,0
ERY	10	10	100,0
FOS	0	2	0,0
FOX	6	6	100,0
FUS	7	11	63,7
GEN	4	6	66,7
KAN	9	12	75,0
LVX	5	7	71,4
OFX	2	4	50,0
PRI	2	10	20,0
RIF	4	7	57,2
SXT	2	7	28,6
TCY	2	6	33,4
TEC	0	10	0,0
VAN	0	12	0,0

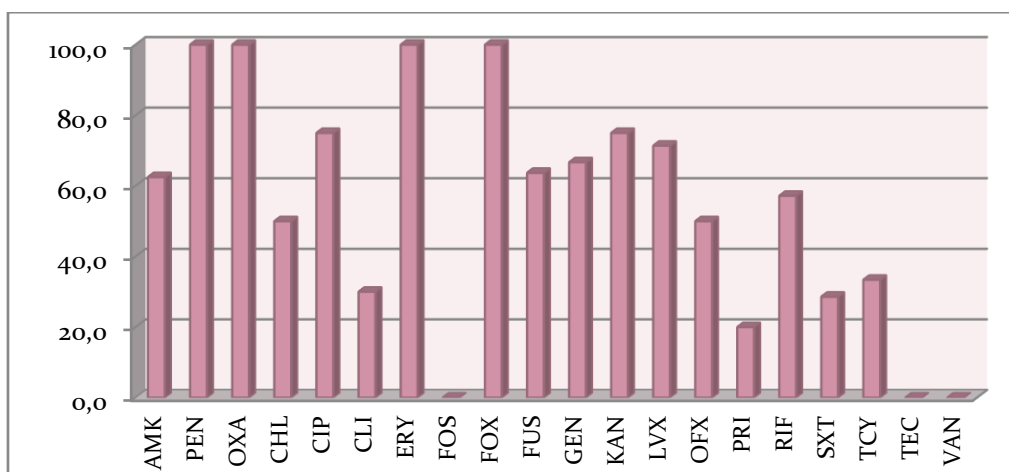


Figure 18 : Pourcentages des résistances des souches de *Staphylococcus coagulase négative* aux antibiotiques.

## Interprétation

Les nombres et pourcentages des résistances de *SCN* aux antibiotiques, montrent que les souches ont une résistance totale de 100% avec la (PEN), la céfamycine (FOX) et (ERY), et présente une résistance élevée avec :

- Les aminosides : (KAN) à 75%, (GEN) à 66.7% et (AMK) à 62.5%.
- Les quinolones : (CIP) à 75%, (LVX) à 71.4% et (OFX) à 50%.
- L'acide fusidique : (FUS) à 63.7%.
- Les phénicolés : (CHL) à 50%.
- Les tétracyclines : (TCY) à 33.4%.
- Les lincosamides : (CLI) à 30%.
- Les sulfamides+ thrimthoprimes : (SXT) à 28.6%
- Les streptogramines : (PRI/ QDE) à 20%.

Le *SCN* 100% sensible aux profils des fosfomycines (FOS) et glycopeptides (VAN, TEC)

### **3.9. Résistance des souches d'*Enterococcus faecalis***

Tableau 21 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches *Enterococcus faecalis* aux antibiotiques

Antibiotique	Nombre	Nombre total	Pourcentage (%)
AMP	0	2	0,0
CHL	0	3	0,0
CIP	0	2	0,0
CLI	2	3	66,6
DOX	1	1	100,0
ERY	2	3	66,6
FOS	0	1	0,0
HLG	1	3	33,3
IPM	0	1	0,0
LVX	1	1	100,0
NIT	0	2	0,0
PRI	1	3	33,3
RIF	1	3	33,3
STH	0	1	0,0
TCY	1	3	33,3
TEC	0	2	0,0
VAN	0	3	0,0

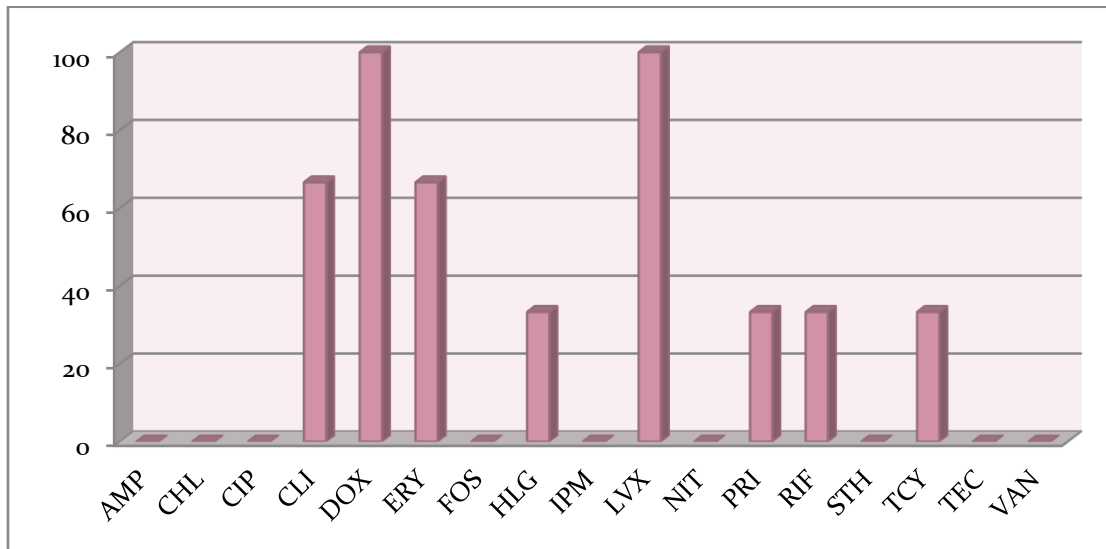


Figure 19 : Pourcentages des résistances des souches d' *Enterococcus faecalis* aux antibiotiques.

### Interprétation

Les nombres et pourcentages des résistances des *Enterococcus faecalis* aux antibiotiques, montrent que les souches ont une résistance totale de 100% avec les (LVX) et (DOX), et une résistance élevée avec (CLI) et (ERY) à 66.6%, les aminosides (HLG), les streptogramines (PRI), les rifamycines (RIF) et les tétracyclines (TCY) à 33.3%.

Les souches d' *Enterococcus faecalis* sont 100% sensibles aux (AMP), (IMP), aux glycopeptides (VAN) et (TEC), sensibles à (STH) qui fait parti des aminosides, aux (CIP), (FOS), (CHL) et (NIT).

### 3.11 Résistance des souches d'*Enterococcus faecium*

Tableau 22 : Nombre et pourcentages des résistances (R+I) des souches d'*Enterococcus faecium* aux antibiotiques en 2018.

ATB	nombre	Total	Pourcentages
AMK	0	1	0,0
AMP	4	4	100,0
CIP	4	4	100,0
HLG	3	4	75,0
NIT	0	3	0,0
VAN	0	4	0,0
ERY	2	3	66,7
RIF	1	3	33,3
STH	0	3	0,0
TCY	0	4	0,0
TEC	0	4	0,0

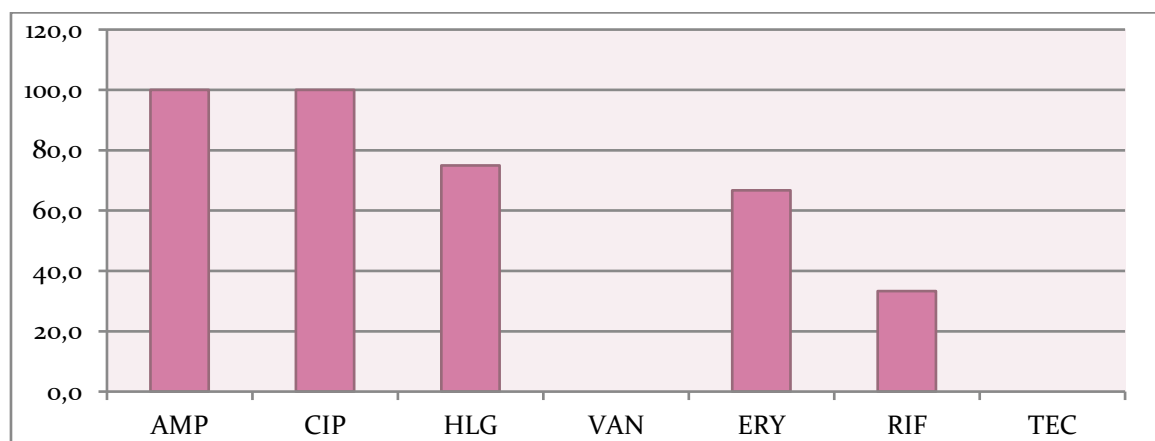


Figure 20 : Pourcentages des résistances (R+I) des souches d'*Enterococcus faecium* aux antibiotiques.

#### Interprétation

L'étude de la sensibilité des souches d'*Enterococcus faecium* a révélé des profils de résistances totaux avec AMP 100% et CIP 100%. On assiste aussi à des résistances élevées vis-à-vis de la GEN 75%, l'ERY : 66.7% et la RIF : 33.3%.

Des résistances nulles (des sensibilités à 100%) sont observées avec la VAN et la TEC.

### 3.12 Résistance des souches de *Streptococcus sp*

Tableau 23 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de *Streptococcus sp* aux antibiotiques isolées des hémocultures.

Antibiotique	Nombre	Nombre total	Pourcentage (%)
AMP	0	12	0,0
CHL	1	9	11,1
CLI	5	17	29,4
CTX	0	12	0,0
ERY	8	15	53,3
HLG	1	2	50,0
LVX	0	6	0,0
OFX	0	4	0,0
PEN	0	13	0,0
PRI	6	17	35,2
RIF	0	12	0,0
TCY	9	10	90,0
VAN	0	17	0,0

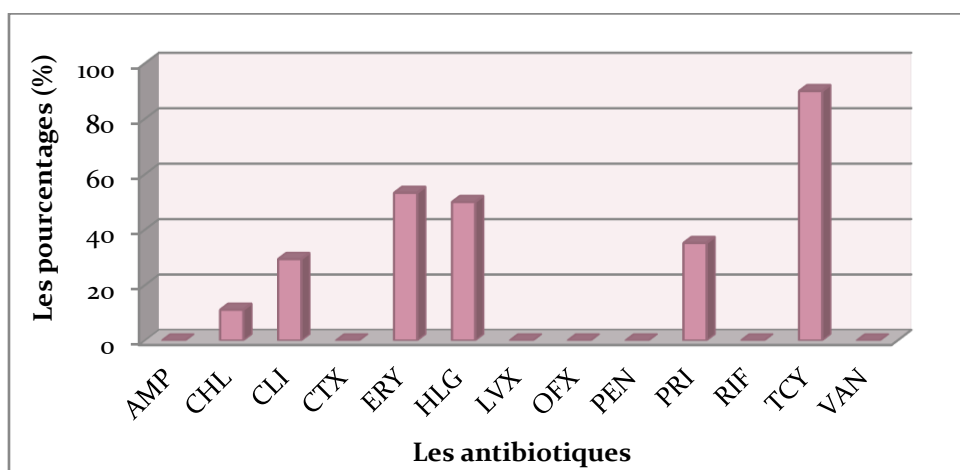


Figure 21 : Pourcentages des résistances des souches de *Streptococcus sp* aux antibiotiques.

#### Interprétation

Les nombres et pourcentages des résistances de *Streptococcus sp* aux antibiotiques, montrent que les souches ont une résistance élevée avec les tétracyclines (TCY) à 90% suivi par les

(ERY) et (HLG) avoisinant 50%. Elles sont aussi résistantes aux (PRI) à 35.2%, (CLI) à 29.4% et aux phénicolés (CHL) à 11.1%.

Les souches de *Streptococcus sp* sont à 100% sensibles aux (PEN), (AMP) et C3G (CTX), aux (LVX), (OFX) et (RIF).

### **3.13 Résistances des souches de *Salmonella sp***

Tableau 24 : Nombres et pourcentages des résistances (R+I) des souches de *Salmonella sp* aux antibiotiques isolées d'hémocultures.

<b>Antibiotique</b>	<b>Nombre</b>	<b>Nombre total</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
AMC	0	7	0,0
AMK	0	5	0,0
AMP	2	6	33,3
ATM	0	4	0,0
CAZ	0	4	0,0
CEP	0	4	0,0
CHL	1	5	20,0
CIP	3	6	50,0
COL	0	6	0,0
CTX	1	6	16,7
CZO	1	6	16,7
ETP	0	3	0,0
FOS	0	4	0,0
FOX	0	3	0,0
GEN	0	6	0,0
IPM	0	5	0,0
NAL	3	3	100,0
NIT	2	5	40,0
SXT	0	5	0,0

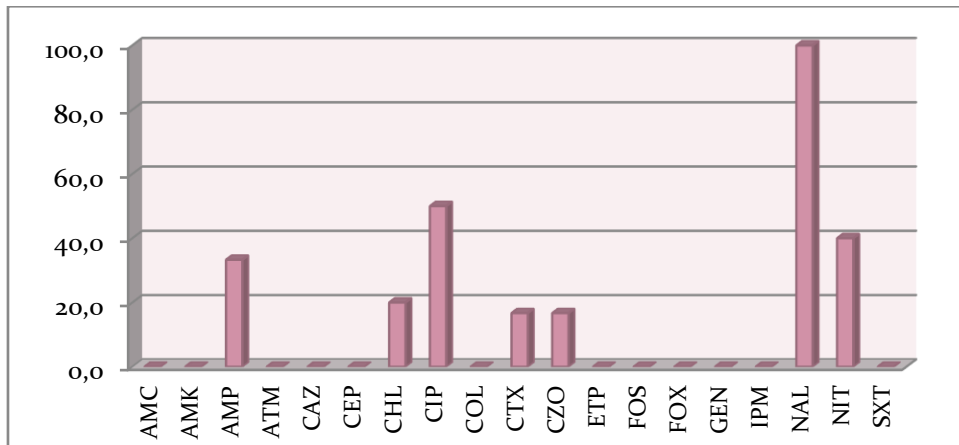


Figure 22 : Pourcentages des résistances des souches de *Salmonella sp* aux antibiotiques.

### Interprétation

Les nombres et pourcentages des résistances des *Salmonella sp* aux antibiotiques, montrent que les souches ont une résistance élevée avec les quinolones de 100% pour (NAL) cependant de 50% pour (CIP). Cette résistance est aussi élevée avec (AMP) à 33.3%, C1G (CZO) et C3G(CTX) à 16.7%, avec les nitrofuranes: (NIT) à 40%, et les phénicolés : (CHL) à 20%.

Les souches de *Salmonella sp* sont 100% sensibles à un grand nombre d'antibiotiques: (AMC), C1G (CEP), C2G (FOX) et C3G (CAZ), des carbapénèmes (IMP) (ETP), les aminosides : (AMK), (GEN), la fosfomycines : (FOS), la (COL), et (SXT).

#### 4 Nombres et pourcentages des betalactamases à spectre étendu

Tableau 25 : Répartition en nombre et en pourcentages des BLSE+ selon les germes durant l'année 2018.

Les germes	Nombres des BLSE+	Pourcentages (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17	40
<i>Escherichia coli</i>	9	21
<i>Enterobacter cloacae</i>	6	14
<i>Klebsiella sp</i>	6	14
BGN	4	9
<i>Enterobacter sakazii</i>	1	2
Total	43	100

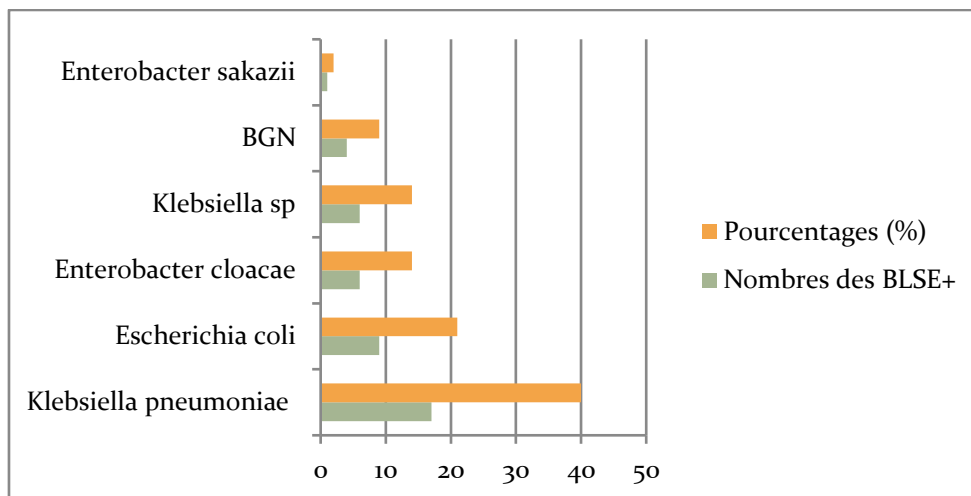


Figure 23 : Nombre et pourcentages des BLSE+ des hémocultures de CHU de Tizi-ouzou en 2018.

Interprétation :

Le nombre de BLSE+ est dominé par *Klebsiella pneumoniae* avec un pourcentage de 40%, suivi par *Escherichia coli* 21%, ils viennent après *Enterobacter cloacae* et *Klebsiella sp* avec 14%, ensuite les BGN à 9%, et enfin les *Enterobacter sakazii* 2%.

Tableau 26 : Evolution des BLSE en hémoculture de 2016 à 2018.

Années	Données de CHU de Tizi-ouzou.		Données des AARN.	
	Nombre de BLSE+	Pourcentage (%)	Nombre de BLSE+	Pourcentage (%)
2016	20	7.97	279	40
2017	26	8.36	348	24
2018	43	12.65	////////////////////	////////////////////

### Interprétation

Le pourcentage de BLSE a connu une augmentation au fil des trois dernières années, cette évolution est superposable aux données des AARN.

### 7. Nombre et pourcentage des SARM

Tableau 27 : Répartition en nombre et en pourcentage des SARM+

	Nombre des SARM+	Pourcentage (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	37.5
<i>Staphylococcus à coagulase négative</i>	10	62.5
Total	16	100

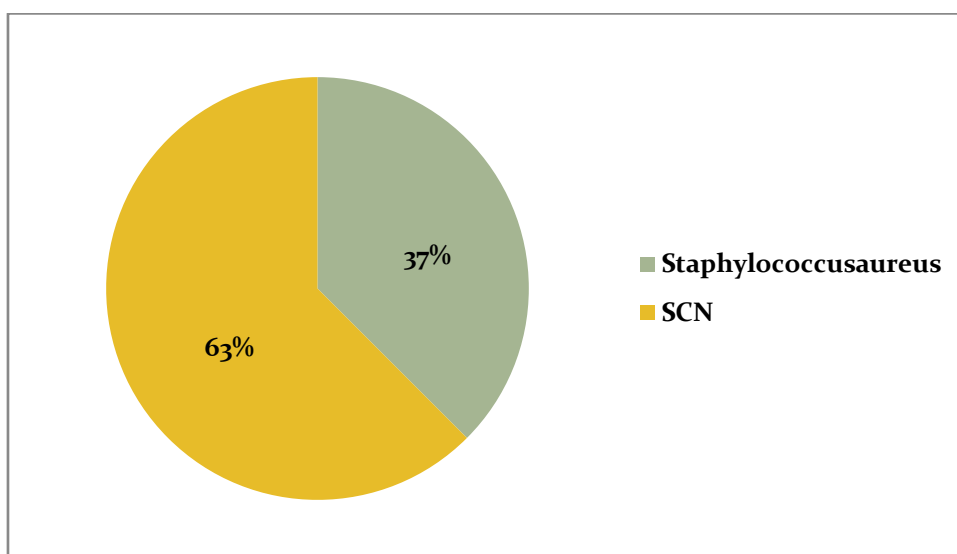


Figure 24 : Répartition en pourcentage des SARM+

## Interprétation

Le nombre de SARM+ est plus important chez les souches de *Staphylococcus à coagulase négative* avec un pourcentage de 62.5% par rapport au *Staphylococcus aureus* avec un pourcentage de 37.5%.

Tableau 28 : Evolution des SARM+ en hémoculture de 2016 à 2018

Année	Données du CHU de Tizi-ouzzou		Données des AARN	
	Nombre des SARM+	Pourcentage (%)	Nombre des SARM+	Pourcentage (%)
2016	9	3.6	40	4.42
2017	4	1.3	187	12.9
2018	16	4.7	////////////////////	////////////////////

## Interprétation :

Les données du CHU de Tizi-ouzzou ont montré une augmentation des taux de SARM au cours de ces trois années de 2016 à 2018 passants de 3,6% à 4,7 %.

## 8. Résultats comparatifs des résistances des germes les plus fréquents aux antibiotiques avec les deux années précédentes

### *Klebsiella pneumoniae*

Tableau 29 : Les pourcentages des résistances de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018

% de résistance	AMC	C1G	C2G (FOX)	C3G	IMP	ERT	GEN	AMK	CIP	CHL
2016	77	74	11	57	0	0	74	4	60	6
2017	58	88	19	67	0	0	35	16	25,8	20
2018	70	97	25	87	21	11,8	62	0	33,3	8

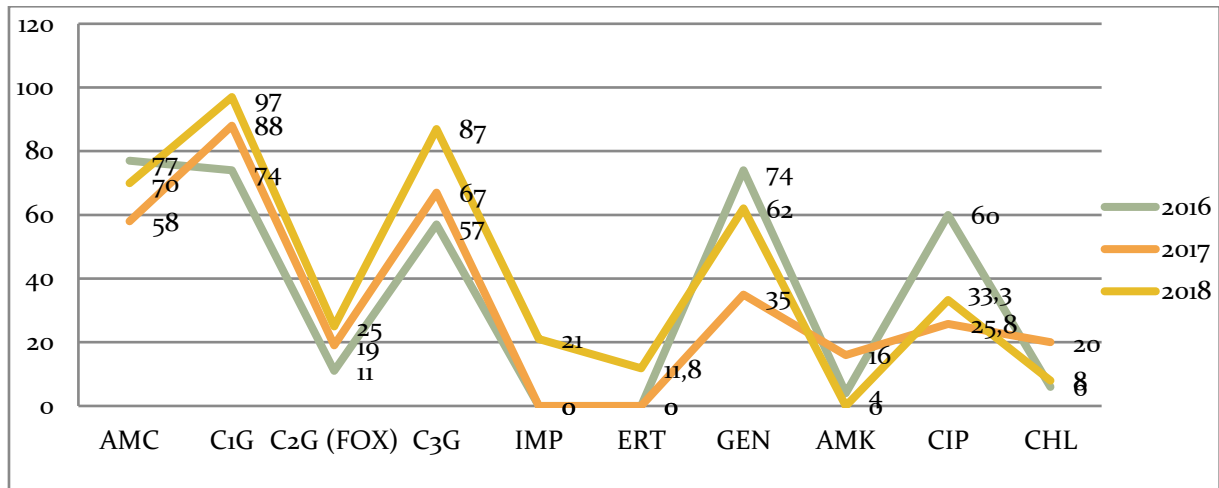


Figure 25 : Comparaison en pourcentage des résistances de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018.

### Interprétation

On remarque que la résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* aux céphalosporines et aux carbapénèmes ne cesse d'augmenter durant les trois dernières années.

En ce qui concerne les aminosides, les quinolones et les phénicolés les résistances ont diminué légèrement en 2017 et en 2018 par rapport 2016 mais elle reste quand même une résistance élevée.

### Escherichia coli

Tableau 30 : Les pourcentages des résistances d'*Escherichia coli* aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018.

% de résistance	AMP	AMC	C1G	C2G (FOX)	C3G	IMP	GEN	AMK	CIP	CHL
2016	75	65	55	0	26	0	14	0	16,7	27
2017	85	62	47	0	42	0	14	11	12,5	9
2018	94	44	96	0	38	0	38	9	30,4	32

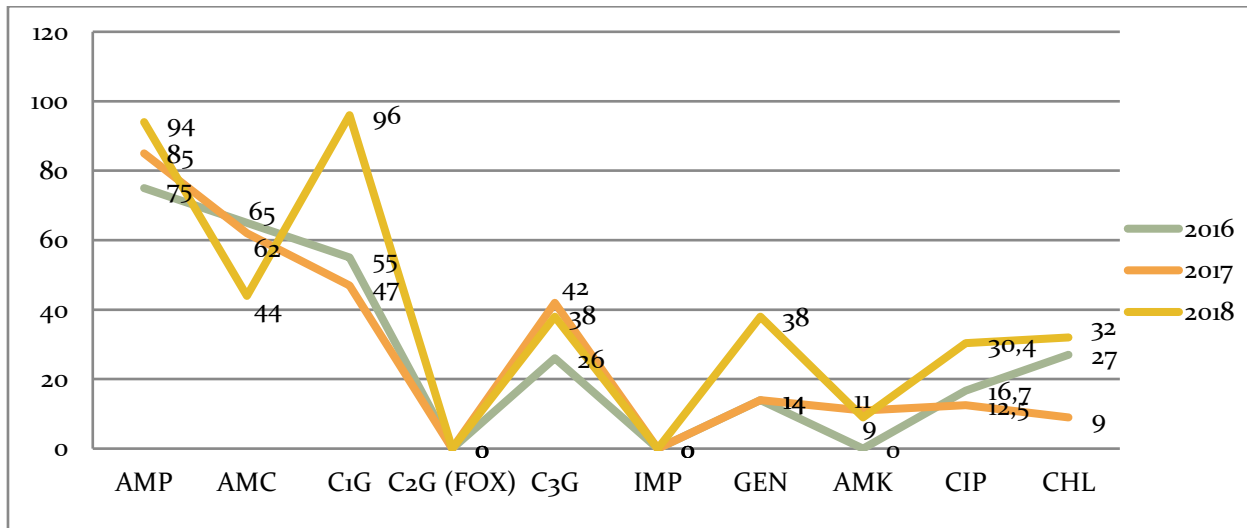


Figure 26 : Comparaison en pourcentage des résistances d'*Escherichia coli* aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018.

### Interprétation

On remarque que la résistance des souches d'*Escherichia coli* à l'ampicilline, aux C1G, C3G et même aux aminosides, aux quinolones et aux phénicolés ne cesse d'augmenter par contre elle a légèrement diminuée avec AMC les trois dernières années.

Les souches gardent leurs sensibilités auprès de la céfamycine et des carbapénèmes.

### Staphylococcus aureus

Tableau 31 : Les pourcentages des résistances de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018.

%de résistance	PEN	FOX	VAN/TEC	GEN	AMK	CIP	ERY	CLI	PRI	CHL
2016	100	32	0	18	16,6	0	29	18	57	0
2017	97	18	0	4,2	11,5	6,5	33	15	25	0
2018	92	17	0	8,7	7,7	16	43	16,7	0	0

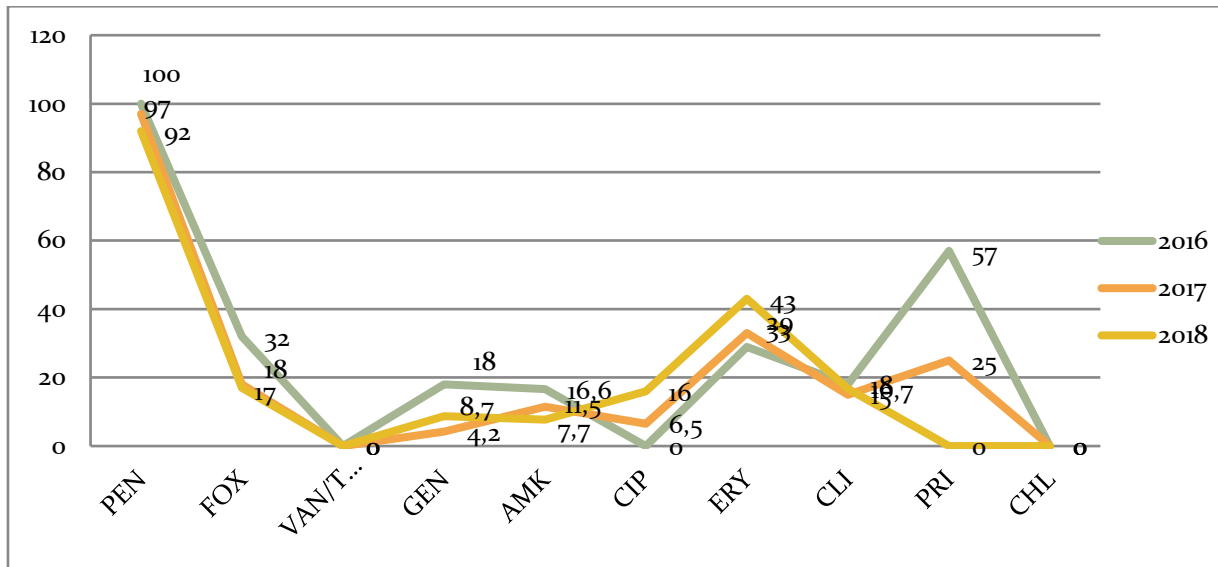


Figure 27 : Comparaison en pourcentage des résistances de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018.

### Interprétation

On remarque que la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* à la PEN est toujours élevée durant les trois années 2016, 2017 et 2018. Une augmentation en continue de la résistance aux CIP et ERY de l'année 2016 au 2018, par contre elle diminue avec PRI, GEN et FOX. Les autres antibiotiques : AMK, CLI et CHL ont une résistance superposable au profil des souches des *Staphylococcus aureus* pendant les trois années. Et demeure sensibles avec la VAN/TEC.

### Pseudomonas aeruginosa :

Tableau 32 : Les pourcentages des résistances de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018.

	TIC	PIP	C3G	IMP	GEN	TOB	CIP
2016	40	9,1	8,3	12,5	33,3	25	0
2017	63	50	1	0	12,5	6,6	7,14
2018	30	25	0	0	0	0	0

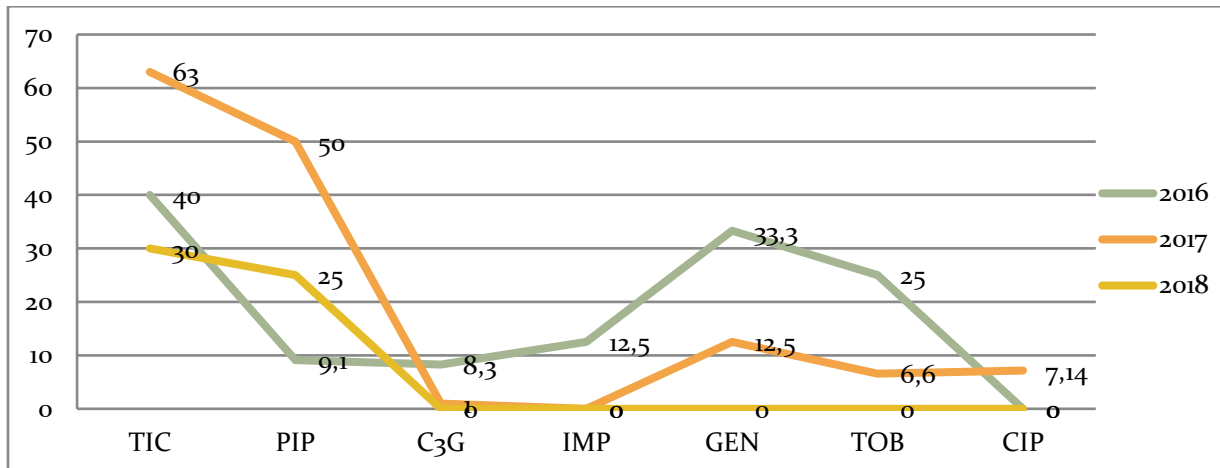


Figure 28 : Comparaison en pourcentage des résistances de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques en 2016, 2017 et 2018.

#### Interprétation :

On remarque que les résistances des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques : C<sub>3</sub>G, IMP, GEN, TOB et CIP sont nulles durant l'année 2018, et plus élevés en 2017, 2016.

La résistance avec la PIP s'est élevée de 2016 au 2018, cependant elle est élevée avec TIC durant les trois années.

## **Discussion**

L'hémoculture est un examen capital de diagnostic des infections bactériennes, néanmoins on trouve un taux des résultats positifs les environs de 8%, ceci est due aux difficultés de détection des bactériémies, qui serait étroitement lié aux concentrations des microorganismes très faibles dans le sang et au volume prélevé qui est insuffisant. En parallèle les contaminations sont fréquentes, essentiellement due aux germes de la flore cutanée ou de la sphère ORL, engendrées par la multiplicité des prélèvements et des failles quant au respect des règles d'asepsie et d'acheminement rapide au laboratoire.

La répartition de l'hémoculture dépend de multiples facteurs, notamment de l'âge et du sexe : les adultes ont représentés la population la plus touchée (67%), cela s'explique par le fait que l'âge soit un facteur physiologique d'immunodépression, en conséquence l'incidence des pathologies sous-jacentes (cardiopathies, hypertension, diabète et autres) et des cancers augmente. Par contre l'incidence standard des maladies infectieuses sur le sexe, explique le fait que la fréquence des hémocultures positives soit légèrement élevée chez le sexe masculin (52%) par rapport au sexe féminin (48%).

Les hémocultures positives sont davantage prédominantes dans les services : d'hématologie avec un pourcentage de 18.5%, qui est très élevé à cause de l'immunodépression des malades atteints d'hémopathies particulièrement malignes (les Leucémies) et sous chimiothérapie et corticothérapie affaiblissant le système immunitaire, de pédiatrie et néonatalogie (18.2%), à cause de la fragilité des nouveau-nés dont la réponse immunitaire est faible et retardée, l'état nutritionnel des enfants en phase de croissance est quantitativement et qualitativement pauvre, l'acte iatrogène au moment de l'accouchement, l'importance des infections néonatales à Streptocoque beta hémolytique suite au portage de ce dernier chez la femme enceinte, la surcharge en femme à terme et post accouchés au niveau de la clinique S'bihi ainsi qu'au service de néonatalogie, toutes ces circonstances favorisent la propagation d'infections néonatales.

Ensuite viennent les services de maladies infectieuses (16.7%), les urgences médicales (6.7%), le service de réanimation (5.6%) et en dernier le service de chirurgie (0.9%) en dépit des infections à porte d'entrée multiple à son niveau.

En comparant nos résultats avec ceux d'ONERBA 2017 en France, les hémocultures positives sont élevées dans les services des urgences, chirurgie, et en dernier le service de pédiatrie, inversement à nos résultats.

**Les entérobactéries :** Les entérobactéries ont dominés le profil bactériologique des hémocultures positives, parmi lesquels *Klebsiella pneumoniae* (13%) vient en tête des bactéries impliquées dans notre étude, suivie par *Escherichia coli* (11%) ensuite *Serratia marcescens* (6%), qui possèdent un potentiel pathogène avec fièvre et bactériémie.

Comparée à d'autres études, nos résultats sont superposables à ceux d'AARN 2017 (*Klebsiella pneumoniae* en première position des entérobactéries 12%, suivi par *E.coli* 8.4%). Alors que dans les résultats d'ONERBA 2017 en France *Klebsiella pneumoniae* vient en 2ème position 6% précédé par *E.coli* 34.3%.

*Klebsiella pneumoniae* commensale de la voie aérienne supérieure, provoque des surinfections des branches voire des abcès du poumon, possédant une capsule qui lui confère un fort pouvoir invasif en protégeant la bactérie de la phagocytose. *Escherichia coli* commensale du tube digestif, responsable de plusieurs infections par acquisition des gènes de pathogénicité : Antigène somatique O qui protège de l'action lytique des compléments, de la fixation des anticorps et de la phagocytose, l'antigène capsulaire K qui rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action du complément, *Escherichia coli* de type K1 qui sont responsables de la majorité des infections néonatales et présence d'adhésine qui lui permet une adhésion à des globules rouges ou des cellules épithéliales. Leur pathogénicité justifie leur prédominance en hémoculture.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques de ces souches, a montré des taux de résistance importants aux antibiotiques testés, ce constat a été rapporté également par différentes études nationales (AARN 2017) [78], et internationales [79, 80].

La proportion de plus en plus réduite des souches sensibles à l'AMX, à l'association AMC et à l'association SXT, compromet l'utilisation abusive de ces antibiotiques pour le traitement d'autres infections, principalement les infections urinaires.

Les carbapénèmes restent actives chez *E.coli*, par contre les germes de *Klebsiella pneumoniae* résistent à l'IMP avec un pourcentage de 21% et ERT 12%, ces germes produisant des carbapénémases sont dits Bactéries Hautement Résistantes (BHR).

Les aminosides ont une activité faible, essentiellement la GEN et à moindre degré l'AMK, le mécanisme de résistance aux aminosides chez les entérobactéries est due essentiellement à l'inactivation enzymatiques (03 classes d'enzyme clés : les phosphotransférase, les nucléotides-transférases et les acétyl-transférases, qui catalysent les groupements hydroxylés nécessaire à l'activité des aminosides.) [34]

Les fluoroquinolones qui ont une activité anti bactérienne très intéressante sont évidemment à proscrire chez l'enfant jusqu'à la fin de la période de croissance, en raison d'une toxicité articulaire, sauf en cas de résistance aux autres antibiotiques où leur utilisation reste possible chez les adultes.

Les résultats de cette étude rapportent une évolution inquiétante de la résistance aux C3G (une résistance de 85% à 90% chez *Klebsiella pneumoniae*, environs les 35% chez *Escherichia coli*), rapportée également par différentes études (avec *Klebsiella pneumoniae* : AARN environs 80% de résistance, en France «ONERBA » 36 % et au Maroc 58%, avec *Escherichia coli* : AARN une résistance de 40%, en France 12% et au Maroc 18%) , est la conséquence de la pression de sélection due à la prescription massive et l'usage souvent abusif des C3G, ainsi qu'à la transmission croisée des résistances acquises à déterminisme plasmidique.

**Les staphylocoques :** Le *Staphylococcus aureus* parmi les germes les plus isolés (13%) après les enterobactéries dans notre étude. (AARN 2017 : *Staphylococcus aureus* 12%, en France « ONERBA 2017 » : 13.9%)

Il est responsable de plusieurs pathologies infectieuses allant de la colonisation au choc septique et responsable aussi d'infections sévères chez les enfants par la sécrétion de leucocidine de Panton et Valentine (PVL), qui est un facteur de virulence toxinique majeur. Ainsi que *Staphylocoques à coagulase négative* sont couramment impliqués au cours des infections nosocomiales ou associées aux soins, en particulier sur matériel (bactériémies sur cathéter, endocardites sur prothèse, infections de site opératoire).

Dans notre étude la pénicilline reste l'antibiotique le moins actif vis-à-vis des souches de staphylocoque (résistant à 92%), cette tendance a été confirmé en différents points du pays (AARN résistance de 94%), ceci est due au fait qu'elles produisent des pénicillinases et développent une résistance croisée entre les pénicillines M (Méticilline, oxacilline) et les autres bêta-lactamines. Par ailleurs les glycopeptides (VAN, TEC) et pristinamycine

demeurent les antibiotiques les plus actifs sur la totalité des *Staphylococcus aureus* (100% sensibles).

Les aminosides (GEN, AMK) sont proposés pour le traitement des infections à *Staphylocoques*, mais nos résultats ont montré qu'ils existent des différences importantes concernant la sensibilité entre les souches de *Staphylococcus aureus* et *SCN*.

*Staphylococcus aureus* réagit bien à la GEN et AMK avec une résistance de 8% contrairement au *SCN* qui ont une résistance de 62% à 66%.

*Pseudomonas aeruginosa* : La résistance aux bêta-lactamines est importante (ATM, PIP) environ 30%, ainsi nous constatons que la résistance à l'association TCC (46%) est supérieure à celle de TIC (30%), cela peut être expliqué soit par l'intervention d'un mécanisme de résistance au inhibiteur acide clavulanique (TRI, BLSE) et autres mécanismes, soit par l'utilisation de disques d'antibiotiques TCC de validité incertaine. [34]

La surexpression de système d'efflux MexEF-OprN est associé à une diminution de la sensibilité à l'IMP par diminution de l'expression de la porine OprD2. [81]

Les aminosides, GEN et AMK avec une résistance nulle, semblent efficaces pour le traitement des bactériémies dues à la présence de *Pseudomonas aeruginosa*. Ce dernier est 100% sensible à la COL, il faut donc minimiser la prescription de colistine pour pallier à l'émergence de nouvelles résistances.

*Acinetobacter baumannii* a atteint des taux de résistances alarmants à la plupart des antibiotiques, cette forte résistance peut s'expliquer par l'antibiothérapie anarchique et puis sa forte tendance et capacité à acquérir des résistances par plusieurs mécanismes : Il existe différents types de céphalosporinases dans cette espèce qui confèrent une résistance aux C1G et C3G. Concernant la résistance aux quinolones la souche a une résistance par modification de cible. La résistance aux aminosides est acquise, le gène est souvent porté par un plasmide. Il existe un certain nombre de souche résistante à l'IMP, le mécanisme n'est pas encore élucidé, cette résistance pourrait être due à la diminution de la perméabilité de la membrane externe. Enfin, la souche est sensible à la colistine. En cas d'utilisation thérapeutique, la CMI de cet antibiotique doit être déterminée.

*Enterobacter cloacae* : Les espèces du genre *Enterobacter* sont naturellement résistantes aux aminopénicillines (AMX), à l'association AMC, aux C1G et C2G (céfalotine et céfoxitine,

respectivement). Par contre elles ont une résistance acquise aux C3G (céfotaxime, ceftriaxon) par hyperproduction de la céphalosporinase (AmpC) chromosomique et/ou par acquisition de gènes codant pour des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE). Les autres bétalactamines : monobactame (ATM), carbapénèmes (ETP, IMP) sont efficaces contre *Enterobacter cloacae* ainsi que la FOS, CHL et AMK.

Les enterocoques : *E.faecium* et *E.faecalis* présentent une résistance élevée à l' ERY 66%, et à la RIF 33%. La résistance des *Enterococcus faecalis* au CLI (70%) par l'intermédiaire d'un système d'efflux appartenant à la famille ATP-Binding cassette. Les glycopeptides (VAN, TEC) restent efficaces (100% sensibles) contre les différentes souches d'enterocoques.

La fréquence d'isolement des entérobactéries productrices de BLSE a atteint un niveau assez alarmant (12.7%), *Klebsiella pneumoniae* occupe le premier rang 40% ensuite *Escherichia coli* 21%. Cette fréquence est nettement supérieure à celle rapportée les deux années précédentes (8%). Cette augmentation a pour conséquence l'apparition des bactéries résistantes à tous les bétalactamines y compris les carbapénèmes. Cela suggérant probablement la circulation et la dissémination par transfert horizontal des plasmides, support de gènes de BLSE, et la persistance de quelques souches clonales qui circulaient entre les services.

La fréquence d'isolement des SARM dans notre étude reste faible (4.7%), ceci est du au faible taux d'isolement des staphylocoques comparativement avec les entérobactéries productrices de BLSE.

## **Difficultés**

Au cours de la réalisation de notre mémoire, nous avons été confrontées à certains obstacles, qui sont résumés ci-dessous :

- Difficulté du transfert des résultats de Vitek vers le logiciel WHONET justifie l'exclusion de ses données dans notre étude.
- La saisie des données sur le logiciel WHONET et sur les registres d'hémoculture se fait manuellement, ce qui expose à des oublis des données et à des erreurs de frappe, la raison pour laquelle certaines résistances ne sont pas significatives.
- L'identification est parfois non concluante des germes faute des galeries API.
- Approvisionnement irrégulier de certaines cartouches d'antibiotique durant l'année a conduit à l'utilisation des disques d'antibiotiques de validité incertaine.

## **Recommandations**

Au terme de notre étude, nous nous permettons de formuler quelques suggestions de bonnes pratiques en hémoculture et de bon usage des antibiotiques :

### ➤ LES BONNES PRATIQUES EN HEMOCULTURE :

Le diagnostic de l'hémoculture repose sur la qualité du prélèvement, donc il est impératif de prendre des mesures pour assurer le bon déroulement de ce dernier. Ces mesures concernent :

- La formation du personnel responsable de prélèvement.
- L'antisepsie rigoureuse au cours du prélèvement pour éviter toute contamination par des germes cutanés ou ambiants.
- Il est important de multiplier le nombre de prélèvements au moment des pics thermiques et de veiller à leurs conservations adéquates et leurs acheminements dans les délais.
- Réaliser le prélèvement en dehors de toute antibiothérapie.

Afin d'améliorer les techniques d'hémocultures, une formation continue des techniciens du laboratoire doit être assurée.

L'introduction des techniques automatiques permettra un gain de temps dans le diagnostic des hémocultures et l'instauration d'une antibiothérapie adéquate.

### ➤ LE BON USAGE DES ANTIBIOTIQUES

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

- Mesures éducatives :

- Formations et réunions à l'intention des prescripteurs (la prescription d'antibiotiques n'est pas automatique).
- réévaluer la coopération et la communication entre cliniciens et microbiologistes.
- Sensibiliser la population des risques de résistances encourues à long terme suite à l'administration abusive et inutile des antibiotiques.

- Mesures de moyens :

- Etablir des guidelines adaptés à l'épidémiologie locorégionale et nationale, en concertation avec les éléments scientifiques concernés dans le but de réaliser des prescriptions d'antibiotiques par palier, ces guidelines doivent être mis à jour et réévaluer continuellement.
- 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 : est une prohormone dont le taux sanguin s'élève et peut être mesuré en routine de façon précoce et spécifique lors d'une infection bactérienne) pour orienter le diagnostic et aider à la décision de prescrire des antibiotiques ou non, et toute infection doit être documenté : faire des prélèvements microbiologiques avant la prescription des antibiotiques.

- Mesures restrictives :

- Listes d'antibiotiques réservés à certaines indications et délivrés uniquement sur justification écrite.
- Prescription de certains antibiotiques sur des ordonnances spécifiques.

➤ LE ROLE DES DIFFERENTS PROFESSIONNELS DE SANTE

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un phénomène mondial qui connaît des proportions alarmantes, pour faire face à l'émergence et à la propagation de ces résistances on suggère :

· Aux cliniciens de :

- Réduire la prescription des antibiotiques (les antibiotiques ne sont pas automatiques).
- S'abstenir de prescrire les antibiotiques en cas des infections virales.
- S'enquérir régulièrement des fréquences d'isolement des bactéries pour une meilleure orientation de l'antibiothérapie probabiliste.
- Ne pas prescrire d'antibiotiques à usage hospitalier pour les infections de « ville » ou communautaires.

- Aux responsables des structures sanitaires :
  - La mise en place d'une politique réelle d'hygiène hospitalière en actualisant les procédures d'hygiène.
  - Suivre l'évolution de la résistance aux antibiotiques en réalisant des études épidémiologiques.
  
- Aux pharmaciens d'officine :
  - Respecter les conditions de délivrances des antibiotiques. En effet les antibiotiques ne peuvent pas être délivrés que sur présentation d'une ordonnance médicale, l'automédication et la délivrance sur conseil des antibiotiques est à bannir.
  - Assurer l'éducation et la sensibilisation de la population sur l'impact de la consommation abusive des antibiotiques.
  - Veiller au respect de la posologie et de la durée de l'antibiothérapie.

## *Liste des références*

---

### **Références bibliographique**

- [1]- LOULERGUE J, AVRIL JL, OMWANGA D, 1987. Etude des produits pathologiques : Hémocultures. Editions SIMEP, 41-5.
- [2]- Vincent Bianchi, Nicolas Duployez, Sarra El Anbassi. Bactériologie - virologie. De Boeck. 2013. (Prepa pharma).
- [3]-Egan AJF, Vollmer W. The physiology of bacterial cell division. Ann N Y Acad Sci. 2013 Jan;1277:8–28.
- [4]-Le microbiote intestinal : un organe à part entière [Internet]. [cited 2016 Mar 24]. Available from: <http://www.microbiote-intestinal.fr/description-du-microbiote>.
- [5]- Livermore DM. Linezolid in vitro: mechanism and antibacterial spectrum. J Antimicrob Chemother. 2003 May 1;51(90002):9ii – 16.
- [6]-Salton MRJ, Kim K-S. Structure Bactérie. In: Baron S, editor. Medical Microbiology [Internet]. 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996 [cited 2016 Sep 8]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8477/>
- [7]- Université Pierre et Marie Curie. Cours de Bactériologie [Internet]. 2003 [cited 2016 Mar 29]. Available from: <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf>
- [8]- Bactériologie, C3UE 2.10 intervenant Dr Rougier.
- [9]- Salton MRJ, Kim K-S. Medical Microbiology. 4th edition. In: Baron S, editor. Medical Microbiology [Internet]. 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996 [cited 2016 Nov 4]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8477/>
- [10]- Christophe Merlin, Ariane Toussaint, les éléments transposables bactériens ,SOCIETE FRANCAISE DE GENETIQUE
- [11]- <https://imedecin.com/Bacteriologie/genetique-bacterienne.html>
- [12]- <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.2.html>
- [13]- Dr Chabani (HCA) , la génétique bactérienne , université d’Alger faculté de médecine.
- [14]- Dr S. Mezaacha Aichour, génétique microbienne , université de Sétif 1
- [15]-Larousse Médical .Paris :LAROUSSE édition ,2007
- [16]- Passe J.,Résultats De Six Années D’ hémocultures An CHU De Treichville De 1994 A 1999 [Thèse].Abidjan ;2001.
- [17]- Sékou Koné M.Bilan De Sept (7) Ans D’hémoculture En Milieu Hospitalier Pédiatrique De Bamako [Thèse].Bamako :Faculté de médecine et d’odonto-stomatologie ;2009.

## *Liste des références*

---

- [18]- Moudjongue Omock S. Mise en place d'un système de surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques : cas des hémocultures au laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako [Thèse] Bamako : laboratoire Rodolphe Mérieux ; 2014.
- [19]- Berrezzouk M. Hémoculture : profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques (à propos de 539 prélèvements collectés au laboratoire de l'hôpital Cheikh Zaid à Rabat) [Thèse]. Rabat: Université Mohamed V faculté de médecine et de pharmacie ; 2018.
- [20]- Archambaud M, Clave D. Diagnostic bactériologique direct d'une infection : les prélèvements, principales bactéries en cause, interprétation. Laboratoire De Bactériologie – Hygiène Faculté de Médecine Toulouse –Rangueil ; 2014.
- [21]- LE MINOR L, MICHEL V. 1989. Bactériologie Médicale. 2ème Edition Paris: 396- 795. 1508.
- [22] - LE MINOR L, MICHEL V. 1989. Bactériologie Médicale. 2ème Edition Paris: 396- 795.
- [23]- <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.4.html>
- [24] – Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques/ STANDARDISATION DES TESTS DE SENSIBILITES AUX ANTIBIOTIQUE A L'ECHELLE NATIONALE, 7ème édition 2014.
- [25]- François Denis/ Marie-Cécile Ploy/ Christian Martin/ Vincent Cattoir. Bactériologie Médicale 3ème Edition Entièrement Refondue.
- [26]- Salim Djelouat, « SALIM DJELOUAT PUBLICATIONS: L'hémoculture : Prescription et Interprétation », *SALIM DJELOUAT PUBLICATIONS*, 2 décembre 2011, <http://salimdjelouatpublication.blogspot.com/2011/12/lhemoculture-prescription-et.html>.
- [27]- Dr.L.Cherifi. Microbiologie 4ème année Medecine, cours Hémoculture.
- [28]-« Galerie API », 8 octobre 2018, [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Galerie\\_API&oldid=152857890](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Galerie_API&oldid=152857890).
- [29]-« test de sensibilité au ATB - Google Docs », consulté le 7 mars 2019, <https://docs.google.com/document/d/15z55j2YvGaIfpRi83txf19qcQVLGSU30YVRCURT3kxc/edit>.
- [30]- « b\_lactamase\_enterobacteriesv2016\_site », Google Docs, consulté le 7 mars 2019, [https://docs.google.com/document/d/1DBtzRD9zfdx0TSHA3yexjEgXJFpwjTpZtf1JNs4OII0/edit?usp=drive\\_web&oid=105399685945405929153&usp=embed](https://docs.google.com/document/d/1DBtzRD9zfdx0TSHA3yexjEgXJFpwjTpZtf1JNs4OII0/edit?usp=drive_web&oid=105399685945405929153&usp=embed).

## *Liste des références*

---

- [31]-Agence national de sécurité de médicament et de produit de santé/ CONSOMMATION D'ANTIBIOTIQUE ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES EN France/2016.
- [32]- D.MOHAMMEDI, Classification et mode d'action des antibiotiques
- [33]- [http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/cours\\_dcem1/antibiotiques\\_gen.htm](http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/cours_dcem1/antibiotiques_gen.htm)
- [34]- Sous la coordination de Pr. K. RAHAL, LES ANTIBIOTIQUES.
- [35] - Amadou Diallo A, *Escherichia coli* pathogènes et résistance aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire Thèse. Toulouse : université De Toulouse ;2013
- [36]-Duranda B.Analyse des consommations antibiotiques et des résistances bactériennes dans huit établissements de santé de Haute –Normandie Thèse .Rouen : Université De Rouen UFR De Médecine Et De Pharmacie ; 2014
- [37]-BarraudO..intégrons de résistance et pression de sélection antibiotique Thèse .Limoges : Université de Limoges discipline :Biologie –Sciences –Santé ;2013.
- [38]Courvalin P. La résistance des bactéries aux antibiotiques :combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques .Bull .Acad .Vét .France ;2008.
- [39]- Martinez J.L., And F.Baquero .Mutation frequencies and antibiotic resisatnce .Antimicrobial agents .Chemther ; 2000 ; 44.1771-7.
- [40]-Muylaert A. ,Mainil J.G résistances bactériennes aux antibiotiques :les mécanismes et leur contagiosité. Ann.Méd .Vét, 2012, 156,109-123.
- [41]-Faures S.Transfert d'un gène de résistance aux bêta-lactamines blactx-m-9 entre salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : influence d'un traitement antibiotique (thèse) .Rennes : Université De Rennes ; 2010.
- [42]-Haenni M.Jouy E.,Madec J-Y.Laurent F.*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : un partage entre l'homme et l'animal .Bulletin Epiddémologique , santé animale et alimentation No 53/Sécial antibiotiques et antibiorésistances ;2014.
- [43]- Bevilacqua S.Evaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le cout des antibiotiques au CHU de Nancy (thèse) France :Ecole doctorale Biose . L'université Henri Poincare ; 2011.
- [44]- Everett ,M.J.,Y.F.,Ricci , V., and Piddok , L.J. Contributions of individual mechanisms to floroquinolones resistance in 36 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals .Antimicrobial. Agents Chemother . 1996 ; 40,2380-2386.
- [45]-Rebaud C .résistance bactérienne aux antibiotiques, maladies nosocomiales .Nancy :2010.

## *Liste des références*

---

- [46]-Bush K. proliferation and significance of clinically relevant beta -lactamases. Ann.N.Y.Acad .Sci ;201 3 ;1277 :84-90.
- [47]- Paterson DI, Bonomo Ra.Extended –spectrum beta –lactamases : a clinical update .Clin .Microbial .Rev ; 2005 ; 18 :657 -86.
- [48]-Institut de veille sanitaire (InVS) Et L’agence Nationale De Sécurité Du Médicament Et Des Produits De Santé (Ans).Consommation d’antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France :nécessité d’une mobilisation déterminée et durable bilan des données de surveillance .2014,10p.
- [49]-Belbel Z, chettibi H, Dekhil M, Iadjama A, Nedjai S. outbreak of an arma methyltransferase producing St39 *Klebsiella pneumoniae* clone in a pediatrie Algerian hospital .Microb.Drug .Resist.2014.
- [50]-entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? », Rev. Francoph. Lab., vol. 2012, no 445, p. 47-58, sept. 2012.
- [51]- A. Philippon et G. Arlet, «  $\beta$ -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! », Ann. Biol. Clin. (Paris), vol. 64, no 1, p. 37-51, janv. 2006
- [52]-Berthelot Ph .Allons –nous vers l’ère post-antibiotique ? Bulletin 104 Editorial ;2014 ;Volume Xxii-N°2,2014.
- [53]-Bodro M.,Gudiol C.,Garcia-Vidal C.,Tubau F. Epidemiology , antibiotic therapy and outcomes of bacteremia caused by drug –resistant escape pathogens in cancer patients ,30 October 2013.
- [54]- Baba Ahmed –Kazi Z.Tani A.Arle C.News of antibiotic resistance among gram-negative bacilli in Algeria .pathologie Biologie 62(2014) 169-178.
- [55]-Rotain S.Evaluation de l’impact d’une équipe opérationnelle ,en infectiologie sur la consommation et le cout des antibiotiques au CHU de Toulouse (Thèse) ,France :Université de Toulouse ;2011.
- [56]- Pages J-M Gargote E.Permeabilité membranaire et résistance aux antibiotiques chez le bactéroles a gram négatif Revue Fran cake Des Laboratoires Aw 200 3,N’’352.
- [57]- Richardot C. Plésiat P. Et Al. Carbapenemes resistance in cystic fibrosis strains of *pseudomonas aeruginosa* as a result of amino acid substitutions in porin ,International Journal Of Antimicrobial Agents Volume 45,Issue 5,May 2015, pages 529-532.
- [58]-Sekhri –Arafa N.fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine (Thèse).Constantine :Université Mentouri De Constantine Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie Département De Biochimie Et De Microbiologie ;2011.

## *Liste des références*

---

- [59]- Cattoir V .pompes D'efflux Et Résistance Aux Antibiotiques Chez Les Bactéries [Thèse]  
Rennes :Laboratoire De Bactériologie –Virologie ,Faculté De Médecine De Rennes ;2004.
- [60]-Bador J. Résistance aux antibiotiques par mécanisme d'efflux chez *Achromobacter xylosoxidans* [Thèse ].Bourgogne :Ecole Doctorale Environnements –Santé ,L'université De Bourgogne ;2013.
- [61]-Ramkumar L.Erwin A.Direct measurement of efflux in *Pseudomonas aeruginosa* using an environment –sensitive fluorescent dye . Infections Diseases Departement Vertex Pharmaceuticals Incorporated ,50 Northen Avenue, Boston ; 2015.
- [62]-Kim ,H,-S.,Nagore ,D.,and Nikaido H.Multidrug efflux pump MdtBC of *Escherichia coli* is active only as a B2C heterotrimer J.-Bacteriol ; 2010 ; 192,1377-1386.
- [63]-Robicsek A.,Jacoby G.A., Hooper D.C The worldwide emergence of plasmid –mediated quinolone resistance .Lancet Infect Dis., 2006 a, 6,629-640.
- [64]-Muylaert A.,Mainil J.G. résistances bacteriennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ».Ann. Med. Vét., 2012, 156,109-123.
- [65]-Bridges J.De jong W.Dorothea Stahl Scientific Committee On Emerging And Newly Identied Health Risks Scenihr Assessment Of The Antibiotic Resistance Effects Of Biocidesthe Scenihr Adopted This Opinion At The 28th Plenary On 19 January 2009.
- [66]-Kaatz,G.W.,McAleese,F.,and Seo,S.M.Multidrug resistance in *Staphylococcus aureus* due to overexpression of a novel multidrug and toxin extrusion (MATE) transport protein .  
Antimicrob.Agents Chemother ;2005 ;49,1857-1864.
- [67]-Géard L.,Cattoir V.Les bactéries multi résistantes .Bull.Acad.Natle Méd. ,2014,198,No 3,427-438, Séance Du 4Mars 2014.
- [68]-Rossi M., Diaz L., Wollam A.,Panesso D.Transferable vancomycin resistance in a community-associated mrsa lineage .Engl J Med ;2014 ;370 ;16 Nejm. Org April 17.
- [69]-Eddayab Y.Detection des bact éries multi résistantes au laboratoire de bactériologie du CHU de Limoges [Thèse].Limoges : Université De Limoges Faculté De Pharmacie ; 2012.
- [70]-Nakajima, A.,Yoneyama ,H.,And NaKae ,T.High –level fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* due to interplay of the mexab-oprm efflux pump and the DNA gyrase mutation .Microbiol ;2002 ;46 :391-395.
- [71]-Galimand ,M.,Sabtcheva, S.,Courvalin,P.,And Lambert ,T.worldwide disseminated arma aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn 1548.  
Antimicrob Agents Chemother ;2005 ;49 :2949-2953.

## *Liste des références*

---

[72]-Tanguy M. Prise En Charge D'une Epidémie D'Acinetobacter Baumannii En Réanimation Médicale Au CHU d'Angers [Thèse]. Université d'Angers ; 2013.

[73]-Huttner B. Procédure interdisciplinaire prévention et contrôle de l'infection prise en charge d'un patient porteur d' *Acinetobacter baumannii* multi-résistant ; 2015.

[74]-Marilyse Vallé M. Résistance aux bêta-lactamines à large spectre chez les bactéries à gram négatif épidémiologie et diagnostic , [Mémoire] Québec : université Laval ; 2015.

[75]-Leekha S., Irish C.I., Schneider S.K., Fernholz E.C., Epsy M.J., Cunningham S.A., Patel R., Juhn Y., Pritt B., Smith T.F., Sampathkumar P. Viral detection using a multiplex polymerase chain reaction –based assay in outpatients with upper respiratory infection .

Diagn Microbiol Infect Dis ; 2013 ; 75 : 169-173.

[76]-Knobler S.I., Lemon S.M., And Burroughs T. The Resistance phenomenon in microbes and infectious disease vectors . The national academies press 2013.

[77]-Hamel F., Hadj –Ali H. Etude statistique de la résistance des bactéries aux antibiotiques au CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou en 2013 [Mémoire]. Tizi-Ouzou : UMMTO ; 2014.

[78]-Rapport AARN 2017.pdf [Internet]. [cité 17 juin 2019]. Disponible sur : <http://www.sante.dz/aarn/documents/rapports/Rapport2017.pdf>

[79]- these: EPIDEMIOLOGIE DE LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES AU CHU MARRAKECH Mlle. AZMOUNS Safaa. [cité 18 juin 2019]. Disponible sur : <http://wd.fmpm.uca.ma/biblio/theses/annee-htm/FT/2016/these61-16.pdf>

[80]- Rapports ONERBA – Onerba [Internet]. [cité 17 juin 2019]. Disponible sur : <http://onerba.org/publications/rapports-onerba/>

[81]- Patrice COURVALIN et Roland LECLERCO : Antibiogramme, 3ème édition.

[82]- National institute for communicable diseases ; WHONET and Laboratory based Antimicrobial Resistance Surveillance. Olga Perovic, Principal pathologist, Centre for opportunistic, Tropical and hospital infections. Senior Lecturer at WITS ; 9th March 2013.

## **- Recherche de la $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE)**

### **Définition d'une BLSE Définition d'une BLSE**

Les BLSE désignent des enzymes «  $\beta$ -lactamases » produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. Entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3ème génération (C3G) (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et des monobactames (aztréonam), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipénème).

### **Méthodes de détection de la BLSE**

Test de synergie: Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam).

#### **. Chez les Entérobactérie**

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

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

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

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

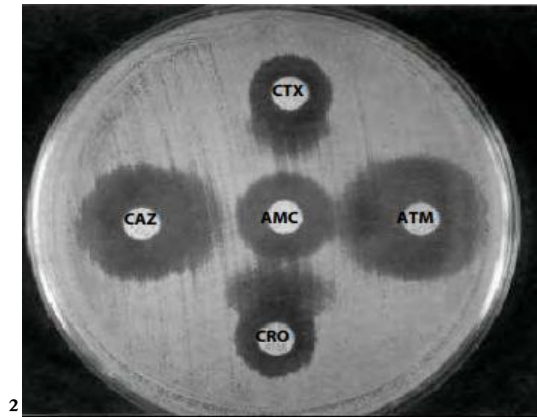


Figure 3: Souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (Bouchon de champagne)

#### Chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* spp.

La détection est plus difficile en raison d'association avec d'autres mécanismes de résistance tels : hyperproduction de céphalosporinase.

Technique : La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline+acide clavulanique (TCC 75/10 $\mu$ g) à 30mm (centre à centre) d'un disque de C3G : ceftazidime (CAZ 30 $\mu$ g), aztréonam (ATM 30  $\mu$ g), céfépime (FEP 30  $\mu$ g).

Incubation : Incuber 18 H à 35 °C

Lecture : Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie ou « bouchon de champagne » entre les disques : - TCC et CAZ - TCC et ATM - TCC et FEP

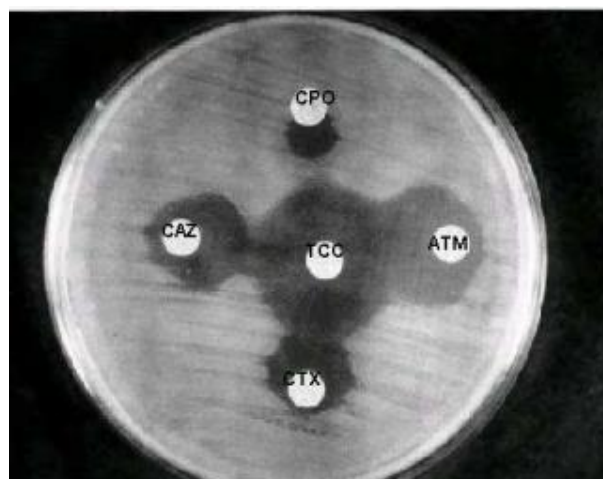


Figure 4: Souche de *Pseudomonas aeruginosa* productrice de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi.

#### Test de confirmation ou technique du double disque

Ce test devra être fait systématiquement devant :

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

Technique : Ce test se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme.

Appliquer les disques d'antibiotiques :

- Pour les entérobactéries : Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) à une distance de 30mm (centre à centre).
- Pour *P.aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. : Déposer un disque de TCC avec un disque de C3G (CAZ) ou monobactame (ATM) à une distance de 25mm.

Certains auteurs signalent une meilleure détection des BLSE en testant un disque de céfopérazone (75µg) avec un disque de TCC (75/10 µg).

Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut. Après 1H d'incubation, ôter le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de CTX ou CRO (ou CAZ). Incuber la boîte 18 H à 35°C.

Lecture et interprétation : Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est  $\geq 5$ mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

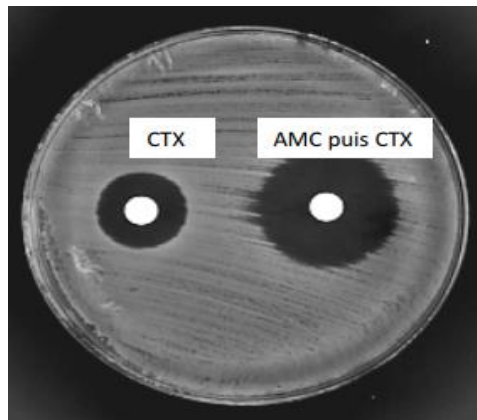


Figure5 : *K. pneumoniae* productrice de BLSE : Test du double disque positif.

### Recherche de la résistance de *Staphylococcus* spp à l'oxacilline

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

	Technique	Inoculum	Milieu	T° incubation*	Durée incubation
<b>Céfoxitine (30µg) Oxacilline (1µg)</b>	Diffusion du disque en milieu gélosé	0.5 McFarland	MH	33-35°C	16 -18h

Lecture des résultats :

	<i>S. aureus</i>	<i>S.lugdunensis</i>	SCN	Souches témoins
<b>Céfoxitine (30µg) Oxacilline (1µg)</b>	≤ 21 mm ≤ 12mm <b>Résistant</b>	≤ 21 mm ---- <b>Résistant</b>	≤ 24 mm ---- <b>Résistant</b>	ATCC <i>S. aureus</i> 25923 - Sensible

### Détermination de la CMI

- Technique de dilution en gélose

L'antibiotique en poudre est dilué dans un solvant approprié et des dilutions semi-logarithmiques de raison de 2 sont réalisées jusqu'à l'obtention d'une concentration finale de 1.25 µg/ml. Répartir 2ml de chaque dilution dans des boîtes de Pétri et les compléter par 18 ml de milieu Mueller-Hinton liquéfié. Préparer une suspension bactérienne et la déposer sous formes de spots ,après solidification de la gélose ,en allant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée.après incubation , placer les boîtes sur une surface sombre non réfléchive , noter la CMI (la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne visible). Comparer les résultats obtenus aux valeurs référentielles et classer les souches de bactéries en S, R ou I.

- Technique de la dilution en milieu liquide

Le MHLAC (milieu Mueller-Hinton ajusté en cations) placé dans des tubes stériles(0.7ml /tube) ; ajouter une solution mère d'antibiotique à 1024 µg/ml ( antibiotique en poudre 10,24mg + solvant adéquat) à raison de 0.25 ml par tube .Réaliser des dilutions semi logarithmiques de raison de 2 : On obtient des concentrations intermédiaires allant de 512µg/ml à 0.063µg/ml. Distribuer une suspension bactérienne (5µg/ml dans chaque tube). La concentration d'antibiotique obtenue va

ainsi de 128ug/ml à 0.016 ug/ml. Après incubation, la CMI correspond au 1<sup>er</sup> tube claire. Comparer la CMI lue aux CMI critiques correspondantes à chaque antibiotique testé et classer la bactérie dans la catégorie S, R ou I.

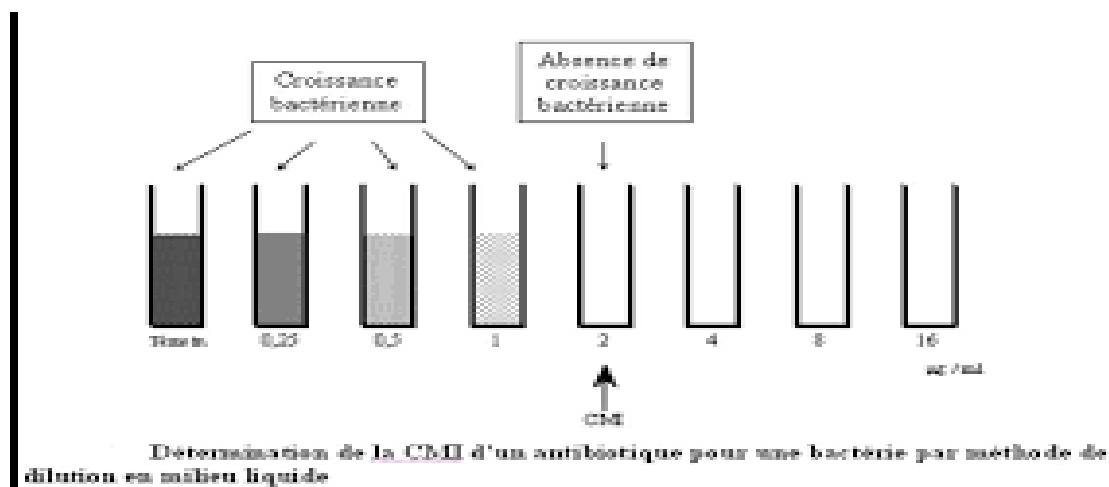


Figure 6 : détermination de la CMI par la technique de la dilution en milieu liquide.

-Technique du 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.

A partir d'une suspension bactérienne, on ensemence à l'aide d'un écouvillon en le frottant sur la surface gélosée du milieu de culture. On dépose la bandelette E-test en commençant par l'extrémité correspondant aux concentrations les plus faibles de l'antibiotique testé puis en progressant jusqu'aux concentrations les plus élevées. Il faut laisser la boîte couverte pendant 15 mn ou plus et l'incuber dans les conditions requises selon la nature de la bactérie testée. la CMI est lue à l'œil nu, 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. Après avoir lu la CMI de la souche bactérienne testée, on la compare aux valeurs référentielles pour classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

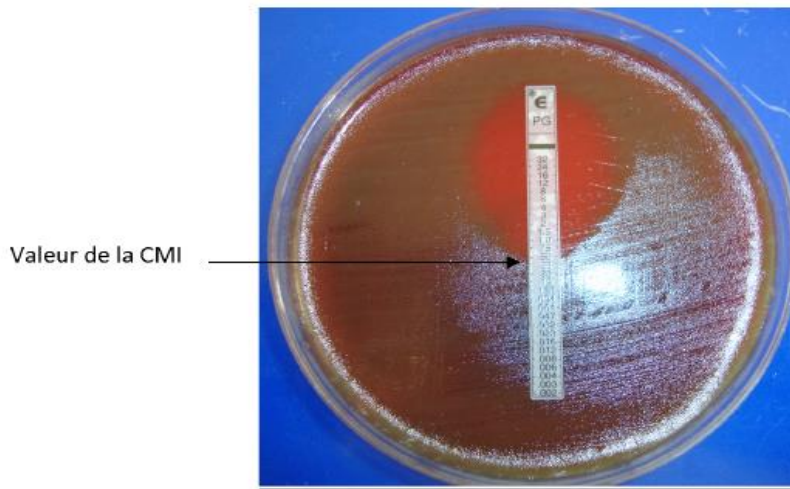


Figure 7 : CMI de la pénicilline G d'une souche de *S. pneumoniae* (technique d'E-Test).

## L'antibiogramme

### 1.1. Milieu pour antibiogramme et préparation de l'inoculum

- Le milieu adéquat doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm.
- A partir d'une culture pure de 18h à 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine ou un écouvillon quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ensuite les décharger dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, l'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable (densité : 0.5MF)

### 1.2. . Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum puis le frotter 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.

### 1.3. Application des disques d'antibiotiques

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90mm.
- Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus* spp , *Neisseria gonorrhoeae* , *Neisseria meningitidis* , *Haemophilus* spp..) ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90mm

### 1.4. Condition d'incubation

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie.

### 1.5. Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurants dans les tables de lectures correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories Résistant (R), Sensible (S), Intermédiaire (I).

**Tableau : LISTE DES ANTIBIOTIQUES A TESTER PAR SOUCHE**

Entérobactéries	Staphylococcus spp	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.pneumoniae</i>	Acinetobacter spp
Ampicilline (10µg)	Pénicilline G (10UI)	Ticarcilline (75µg)	Oxacilline (1µg)	Ticarcilline (75µg)
Amoxicilline+	Céfoxitine (30µg)	Ticarcilline + Acide	Erythromycine (15µg)	Pipéracilline (100µg)
Acide clavulanique (20 µg +10µg)	Kanamycine (30µg)	clavulanique (75µg/10µg)	Clindamycine (2µg)	Ticarcilline
Céfazoline (30µg)	Gentamicine (10µg)	Pipéracilline (100µg)	Chloramphénicol (30µg)	+Acide clavulanique
Céfalotine (30µg)	Amikacine (30µg)	Ceftazidime (30µg)	Rifampicine (5µg)	(75 µg / 10µg)
Céfoxitine (30µg)	Erythromycine (15µg)	Aztréonam (30µg)	Triméthoprime	Céftazidime (30µg)
Céfotaxime (30µg)	Clindamycine (2µg)	Imipénème (10µg)	+Sulfaméthoxazole	Imipénème (10µg)
Ceftazidime (30µg)	Pristinamycine	Amikacine (30µg)	(1.25/23.75µg)	Gentamicine (10µg)
Aztréonam (30µg)	Quinupristine-Dalfopristine (15µg)	Gentamicine (10µg)	Vancomycine (30µg)	Tobramycine (10µg)
Imipénème (10µg)	Ofloxacin (15µg)	Tobramycine (10µg)	Lévofoxacin (5µg)	Amikacine (30µg)
Ertapénème (10µg)	Ciprofloxacine (5µg)	Nétilmicine (30µg)	Doxycycline (30µg)	Ciprofloxacine (5µg)
Gentamicine (10µg)	Lévofoxacin (5µg)	Ciprofloxacine (5µg)	Quinupristin-	Levofoxacin (5µg)
Amikacine (30µg)	Chloramphénicol (30µg)	Lévofoxacin (5µg)	Dalfopristine (15µg)	Doxycycline (30µg)
Acide nalidixique (30µg)	Vancomycine (30µg)	Colistine (10µg)	Fosfomycine (50µg)	
Ciprofloxacine (5µg)	Teicoplanine (30µg)		Gémifloxacine (5µg)	
Chloramphénicol (30µg)	Rifampicine (200µg)			
Colistine (10µg)	Triméthoprime			
Nitrofurantoïne (300µg)	+Sulfaméthoxazole			
Triméthoprime	(1.25/23.75µg)			
+Sulfaméthoxazole	Tétracycline (30µg)			
(1.25/23.75µg)	Acide fusidique (10 µg)			
Fosfomycine (200µg)				

## *RESUME*

---

La sévérité des septicémies et l'émergence des résistances bactériennes aux antibiotiques constituent un enjeu de santé touchant toutes les tranches d'âge, de ce fait on a réalisé ce travail dans le but de faire les points sur les différents germes isolés en hémoculture et leurs profils de résistance aux antibiotiques durant l'année 2018 au CHU de Tizi-Ouzou.

Il s'agit d'une étude rétrospective incluant tous les résultats d'hémoculture du laboratoire de microbiologie. D'après ces résultats, il ressort que les germes d'infections nosocomiales sont les plus fréquemment isolés, principalement *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline, *Acinetobacter baumannii* multi résistant et le *Pseudomonas aeruginosa*, alors que les bactéries spécifiques ne sont isolées qu'à de faibles fréquences.

L'évaluation de la résistance bactérienne aux antibiotiques montre que l'efficacité des béta-lactamines sur les entérobactéries est diminuée et ne devrait donc plus être utilisés comme traitement de première intention. Ce phénomène de résistance touche même les C3G par production de BLSE.

La recrudescence de *Acinetobacter baumannii* résistantes aux différents antibiotiques sauf à la colistine, tandis que *Pseudomonas aeruginosa* reste sensible à la majorité des antibiotiques et l'augmentation des isolats de *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline.

La rationalisation de la prescription de l'antibiothérapie et la mise en place d'un système de surveillance des Bactéries multi résistantes devront être mises en œuvre en urgence ainsi que l'hygiène hospitalière et la sensibilisation du personnel de la santé et la population sont primordiaux afin de limiter l'émergence de bactéries multi résistantes dans nos structures de soin.

---

The severity of septicemias and the alarming emergence of bacterial resistance to antibiotics is considered as one of the biggest health challenges that affects all age ranges, therefore, this work is done to discuss the different microorganisms found in a positive blood culture and their antibiotic resistance profiles during 2018, in UHC TIZI OUZOU.

This retrospective study gathers all the results concerning blood culture in microbiology laboratory. The results found have shown that the nosocomial infections bacteria ( Health Associated Infections ) are the most frequently isolated such as: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Acinetobacter baumannii* multi-drug resistant and *Pseudomonas aeruginosa*.

The analyze of antibiotic resistance reveals the presence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) in Enterobacteriaceae that has exacerbated the global situation of antibiotic resistance. ESBLs hydrolyze and inactivate betalactam antibiotics, including third-generation cephalosporins, as a result they should be restricted to initial management of bacterial infection.

*Acinetobacter baumannii* is extensive drug resistant bacteria, except for colistin while *pseudomonas aeruginosa* remains responsive to the majority of antibiotics.

The rationalization of the antibiotic therapy prescription is a necessity, and the development of strong antimicrobial surveillance and infection control must be established to guide in selecting empiric antibiotic therapy and in monitoring resistance trends in the hospital.

In order to prevent the spread of MDR bacteria, various campaigns should be organized about the consequences of misuse of antibiotics, the importance of hygiene, to both population and healthcare professionals, to improve awareness and understanding of the antimicrobial resistance.

