

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلم

Université Mouloud Mammeri
FACULTE DE MEDECINE
TIZI OUZOU



جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو

ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵉⵎⵎⴰⵔⵉⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ

Département de Pharmacie
N° D'ORDRE :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté et soutenu publiquement

Le 16 JUILLET 2017

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème :

Surveillance de la résistance aux antibiotiques chez
les bactéries sentinelles en milieu communautaire

Réalisé par :

METCHIM Amel

&

MADOUNI Zeyneb

Promoteur: DJERBOUA Taoufik

Membres du jury :

Dr. AZZAM Amina	MAHU	Faculté de Médecine UMMTO	Présidente de jury
Dr. ALLOUCHE Kahina	MAHU	Faculté de Médecine UMMTO	Examinatrice
Dr. ABDOUNE Amar	RHU	Faculté de Médecine UMMTO	Invité d'honneur
BECHIRI Ouiza	ETLM	Faculté de Médecine UMMTO	Encadreur technique

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2016/2017

Remerciements

Nous remercions Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur Dr DJERBOUA Taoufik, pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail. Et pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

A notre présidente de jury, Dr AZZAM Amina, nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de notre jury de thèse. Nous vous remercions de nous avoir ouvert le laboratoire de microbiologie et de vos précieux conseils. Veuillez accepter, l'assurance de notre estime et de notre profond respect.

A notre examinatrice, Dr ALLOUCHE Kahina. Votre assistance parmi les membres du jury de thèse nous honore beaucoup. Soyez la bienvenue à la faculté de médecine Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

Nous remercions Dr SEKLAOUI Nacira de nous permettre l'accès au laboratoire parasitologie pour récolter les prélèvements.

Nous remercions Dr BELGHIT Yousra Bouchra, pharmacienne maître assistante en biologie clinique responsable du laboratoire de biologie au niveau de la polyclinique Colonel Mira Alger, qui nous a fourni le milieu chromagar et les disques d'antibiotiques sans lesquels nous ne pourrions pas mener cette étude.

Nous remercions Dr BENADDA Samia Nesrine, pharmacienne maître assistante hospitalo-universitaire, EHS EL AADI FLICI (El kettar) Alger, de nous avoir fourni le milieu BEA.

Nous remercions très chaleureusement notre chère, Mademoiselle BECHIRI Ouiza comme encadreur technique de notre étude au Laboratoire de microbiologie de la faculté de Médecine Tizi-Ouzou.

Nous remercions Dr ABDOUNE Amar pour son aide à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, nous souhaitant adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

MERCI

Dédicaces

Je dédie humblement ce manuscrit à :

Ma très chère maman

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessée de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Même si tu n'es plus là tu resteras toujours l'exemple de la meilleure femme que j'ai connue toute ma vie. Que dieu t'accueille dans son vaste paradis. Je t'aime maman.

Mon très cher papa

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Mon très cher frère Ahmed

Mon cher frère qui m'est le père et la mère, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi. Mon ange gardien et mon fidèle compagnon dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. Je dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Ma très chère sœur Sybia

Ma chère petite sœur présente dans tous mes moments d'examens par son soutien moral et ses belles surprises sucrées. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

Merci à mes amis qui ont été toujours là à côté de moi durant mes moments difficiles surtout ma chère *Ouiza*. je te souhaite une vie pleine de bonheur, succès et d'amour.

METCHAM Amel

Dédicaces

Je commence par rendre grâce à dieu et à sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade. Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions.

Je dédie ce modeste travail à :

Mon cher père, ma chère maman ;

Qui ont veillé à ce que je suis arrivée maintenant. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation. Merci mes parents d'être toujours présents à mes côtés dans les bons comme dans les mauvais moments. C'est en partie grâce à vous si j'en suis là aujourd'hui, j'espère que j'été à la hauteur de vos espérance. Que dieu vous garde et vous procure santé et longue vie.

Je t'aime maman, je t'aime papa

Mes frères Faycal et Zohir ;

Que dieu vous protège et vous offre une vie pleine de joie, bonheur et réussite.

A Ouiza ;

Une très belle rencontre, merci pour ta présence et ton amitié sans faille.

A toutes personnes malade et qui souffrent, que dieu nous aide à apaiser vos souffrance que dieu vous garde et vous accorde des jours meilleur.

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

Zeyneb



Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale.....	01
Objectifs	02

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I : Développement des antibiotiques à l'aire de la résistance

1. Historique d'introduction des antibactériens.....	04
1.1. Historique d'introduction des antibactériens.....	04
1.2. L'évolution de la résistance microbienne.....	04
2. Les enjeux sanitaires de la dissémination de la résistance et du développement de nouveaux antibiotiques	05
2.1. Les enjeux sanitaires de la dissémination de la résistance	06
2.2. Les nouveaux antibiotiques : Mécanisme et cibles microbiologiques	07

CHAPITRE II : La résistance bactérienne aux antibactériens en milieu communautaire

1. Définitions	10
2. Mécanisme d'action et de la résistance aux principales familles d'antibiotiques chez <i>E.coli</i> et <i>Enterococcus spp</i>	11
2.1. Mode d'action de principales familles d'antibiotiques	11
a. Les bêta- lactamines	11
b. Les aminosides	11
c. Les phénicolés	12
d. Les quinolones.....	12
e. Cotrimoxazole	12
f. Furanes	12
g. Fosfomycine	12
2.2. Supports génétiques de la résistance	12
2.3. Mécanismes de résistance	14
a. <i>Escherichia coli</i>	14
b. <i>Enterococcus spp</i>	20
3. Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance.....	24
3.1. Facteurs humains	24

3.2.	Facteurs liés aux bactéries	25
4.	Conséquences de la résistance bactérienne aux antibiotiques	25
4.1.	Conséquences sanitaires	25
4.2.	Conséquences économiques	26
5.	méthodes de détection au laboratoire	26
6.	Epidémiologie de la résistance bactérienne au milieu communautaire.....	26
6.1.	<i>Escherichia coli</i>	26
6.2.	<i>Enterococcus</i> spp.....	27
6.3.	<i>Staphylocoque aureus</i>	28
6.4.	<i>Heamophilus influenzae</i>	28
6.5.	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	28

CHAPITRE III : Lutte contre l'émergence et la diffusion de la résistance aux antibactériens

1.	Organisation de la lutte contre l'émergence et la diffusion de la résistance aux antibactériens.....	31
1.1.	Système mondial de la surveillance de la résistance aux antimicrobiens (GLASS).....	31
1.2.	AARN : Algerian Antimicrobial Resistance Network, répertorié sur le site de l'OM. 31	
1.3.	Exemples d'autres réseaux internationaux de surveillance et de lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques	32
2.	Surveillance de la résistance bactérienne à l'antibiotique et application du concept de bactéries sentinelles en milieu communautaire	33
a.	Définition des bactéries sentinelles	33
b.	Les caractéristiques des bactéries sentinelles	34
c.	Domaines d'usage des bactéries sentinelles et application à la surveillance de la résistance aux antibiotiques.....	35
c.1.	Domaines d'usage des bactéries sentinelles	35
c.2.	Application à la surveillance de la résistance bactérienne	35
c.2.1.	<i>Escherichia coli</i>	35
c.2.2.	<i>Enterococcus</i> spp.....	37

CHAPITRE IV : Stratégies de prévention

1.	Promouvoir l'innovation et la recherche sur les nouveaux médicaments et les nouvelles technologies	40
1.1.	Les phages, des virus tueurs de bactéries	40
1.2.	Une barrière chimique naturelle	40
1.3.	Les bactéries cannibales	41
1.4.	L'aspergillomarasmine.....	41
1.5.	Un cheval de Troie moléculaire : «Crispr-Cas9 »	41
1.6.	Nanoparticules	42
1.7.	Anticorps	42
1.8.	Probiotiques.....	42

1.9. Lysines.....	42
2. Réduire l'utilisation rationnelle des antibiotiques en agriculture et en médecine vétérinaire et humaine	42
3. Rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre la résistance bactérienne.....	42
4. Conseils en antibiothérapie.....	43

PARTIE PRATIQUE :

Méthodes et matériels	47
Résultats et la discussion	68
Limites de l'étude	95
Recommandations	96
CONCLUSION	98
ANNEXES	99
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	121

Liste des abréviations :

ARN : Acide ribonucléique

ATB : Antibiotique

ADN : Acide désoxyribonucléique

AARN: Algerian Antimicrobial Resistance Network

ASPC : Agence de la santé publique du Canada

BMR : Bactéries multi résistantes

BEA : Bile-Esculine-Azide

BGN : Bactérie gram négative

BHR : Bactéries hautement résistantes

BHRe : Bactéries hautement résistantes émergentes

BLSE : Béta lactamase à spectre élargi

C1G : Céphalosporine 1^{er} génération

C3G : Céphalosporine troisième génération

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CPT: Comité pharmaceutique et thérapeutique

CAESAR : Réseau de surveillance de la résistance aux antimicrobiens en Asie centrale et en Europe

ECO: *Escherichia coli*

E.coli: *Escherichia coli*

E. faecalis : *Enterococcus faecalis*

E.faecium : *Enterococcus faecium*

ent : *Enterococcus spp*

EPC : Entérobactéries productrices de carbapénémase

EARSNet : European Antimicrobial Resistance Surveillance Network Europe orientale (Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance)

GLASS : Système mondial de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (Global Antimicrobial Resistance Surveillance System)

Gram+ : gram positive

Gram- : gram négative

H.influenzae : *Haemophilus influenzae*

IUC : Infection urinaire chronique

LABM : Laboratoire d'analyse de biologie médicale

MLSB : Macrolides, Lincosamides et Streptogramines B

MH : Mueller Hinton simple

MHS : Mueller Hinton simple

MHOX : Mueller Hinton+ oxacilline

OMS : Organisation mondiale de santé

PLP : Protéines de liaison à la pénicilline

PCR : Polymerase chain reaction

PSDP : Pneumocoques de Sensibilité Diminuée à la Pénicilline

RAM : Résistance aux antimicrobien

ReLAVRA : Réseau de surveillance de la résistance aux antimicrobiens en Amérique latine

(Latin American Antimicrobial Resistance Surveillance Network)

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

SARM : Staphylocoque aureus méthicilino-résistant

SCSRA : Système Canadien de surveillance de résistance aux antimicrobien

sl : Selles

UAM : Utilisation des antimicrobien

UR : Urine

Liste des figures :

Figure 1 : La découverte des antibiotiques entre 1929 et 2003.

Figure 2 : Acquisition des résistances au cours du temps.

Figure 3 : Développement des antibiotiques vers les années : de moins en moins de nouveaux antibiotiques.

Figure 4 : Emergence de résistances aux antimicrobiens.

Figure 5 : Supports de gènes de résistance.

Figure 6 : Différentes classes de bêta-lactamases selon la classification d'Ambler.

Figure 7: Mécanisme de résistance des β -lactamines.

Figure 8 : Mécanisme de résistance aux quinolones.

Figure 9 : Mécanisme de résistance d'*E.coli* à la fosfomycine.

Figure 10 : mécanisme de résistance d'*Enterococcus* spp aux bêta lactamines.

Figure 11 : Mécanisme de résistance aux glycopeptides d'*Enterococcus* spp.

Figure 12 : Emergence et dissémination de la résistance aux antimicrobiens.

Figure 13 : Les voies de transmission des bactéries résistantes à travers l'environnement.

Figure 14 : Emergence de BMR communautaires Hier et aujourd'hui.

Figure 15 : Stratégie mondiale de lutte contre la résistance aux antimicrobiens établie par l'organisation mondiale de santé (OMS).

Figure 16 : Sources des bactéries indicatrices fécales.

Figure 17 : Transfert horizontale des gènes entre *E. coli* et *Shigella*.

Figure 18 : Transfert horizontale des gènes entre *E. coli* et *Salmonella*.

Figure 19 : Transfert horizontal d'*E. faecalis* des gènes à *S.aureus*.

Figure 20 : Transfert génétique horizontale d'*E. faecalis* à *S.gordonii* Challis.

Figure 21 : Les différentes étapes de la phagothérapie.

Figure 22 : Cycle de vie de *Bdellovibrio*.

Figure 23: Les différentes étapes d'un cheval de Troie moléculaire.

Figure 24 : Rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre le développement de l'antibiorésistance.

Figure 25 : prévention contre la propagation de la résistance aux antimicrobiens dans les milieux de soins de santé.

Figure 26 : 13 mesures pour maîtriser l'antibiorésistance.

Figure 27 : Réduction de la demande d'antimicrobiens et réduction de l'usage non désiré.

Figure 28 : Algorithme de traitement des échantillons

Figure 29 : Aliquotes de selles et urines.

Figure 30 : Suspensions de selles et d'urines déchargées dans des tubes de bouillon nutritif avec un disque de céfotaxime 6 µg/ml.

Figure 31 : *E. coli* sur milieu Chromagar®.

Figure 32 : Entérocoque sur milieu chromagar®.

Figure 33 : Isolement par technique des stries.

Figure 34 : Isolement par technique des spots.

Figure 35 : Milieu BEA.

Figure 36 : *Enterococcus* spp sur milieu bile esculine azide.

Figure 37: Préparation de l'inoculum bactérien.

Figure 38 : réalisation de l'antibiogramme.

Figure 39 : Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie.

Figure 40: Rapprochement des disques AMC et CTX de 10mm, 15mm, 20mm.

Figure 41: Test du double disque sur MHS.

Figure 42 : Test de synergie positif sur MHOX révélant l'association d'une BLSE et d'une céphalosporinase.

Figure 43 : CMI de l'imipénème+EDTA d'une souche d'*E.coli*.

Figure 44 : CMI de CAZ et CTX vis-à-vis d'*E.coli* ATCC 25922.

Figure 45 : CMI de céfotaxime vis-à-vis des souches BLSE+.

Figure 46 : CMI de ceftazidime vis-à-vis des souches BLSE.

Figure 47 : Taux global des enrichissements sélectifs. (N=141)

Figure 48 : Taux de positivité global des enrichissements sélectifs.(N=100)

Figure 49 : Pourcentage de souches d'*E.coli* selon le sexe. (N=52)

Figure 50 : Pourcentage de souches d'*Enterococcus* spp selon le sexe. (N=48.)

Figure 51: Répartition des résistances d'*E. coli* aux antibiotiques.(N=52)

Figure 52 : Phénotypes de résistances aux β-lactamines. (N=52)

Figure 53 : Test de trèfle positif = culture positive de l'ATCC *Staphylococcus aureus* 25923 autour de la strie de la souche d'*E.coli* à tester.

Figure 54 : Test de synergie et test de double disque négatifs sur MH.

Figure 55 : Test de synergie et test de double disque positif sur MHOX.

Figure 56 : Phénotypes de résistance aux quinolones. (N=52)

Figure 57 : Taux de résistance aux quinolones selon la catégorie d'âge. (N=52)

Figure 58 : Le nombre de souches présentant une résistance aux aminosides. (N=52)

Figure 59 : Nombre de souches résistantes à chloramphénicol. (N=52)

Figure 60 : Nombre de souches résistantes à cotrimoxazole. (N=52)

Figure 61 : Taux de résistance %R+I aux antibiotiques testés chez *E. coli* suivant les années [2012-2013, 2014, 2015, 2017].

Figure 62 : Taux de résistance %R+I d'*E. coli* en 2017 et de *Salmonella* en 2015.

Figure 63 : Taux de résistance %R+I d'*E. coli* en milieu communautaire et en milieu nosocomial.

Figure 64 : Taux de résistance d'*Enterococcus* spp aux antibiotiques. (N=48)

Figure 65 : Phénotypes de résistance aux bêtas lactamines. (N=48)

Figure 66 : Test de trèfle négatif= culture négative de l'ATCC *Staphylococcus aureus* 25923 autour de la strie de la souche d'*Enterococcus* spp à tester.

Figure 67 : Phénotypes de résistance aux aminosides. (N=48)

Figure 68 : Phénotypes de résistance aux glycopeptides. (N=48)

Figure 69 : Phénotypes de résistance aux macrolides. (N=48)

Figure 70 : Phénotypes de résistance aux quinolones. (N=48)

Figure 71 : Phénotypes de résistance à la rifampicine. (N=48)

Figure 72 : Evolution de la résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli*.

Figure 73 : Taux de résistance %R+I d'*E. coli* en milieu communautaire et en milieu nosocomial.

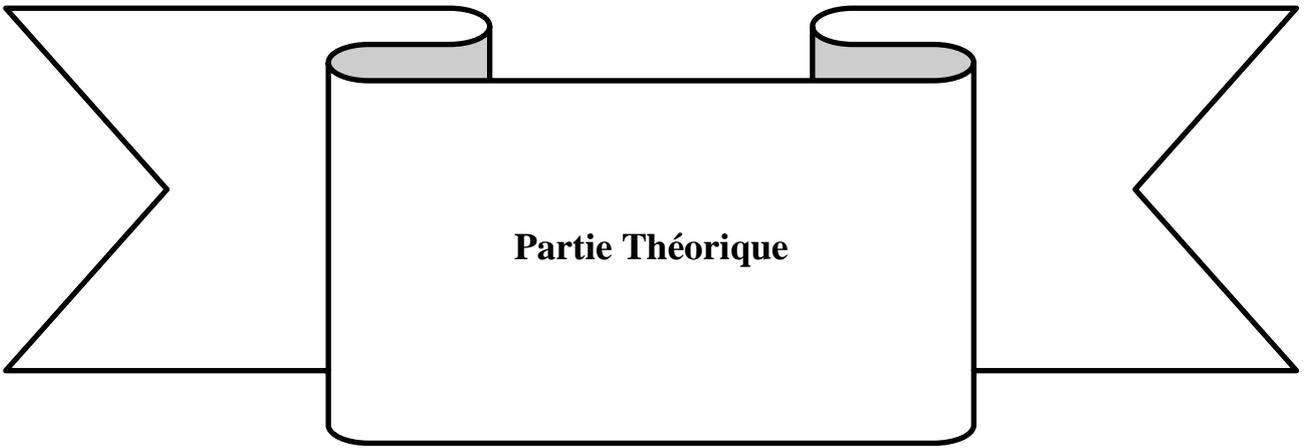
Liste des tableaux :

Tableau I : Caractéristiques de différents éléments génétiques impliqués dans la dispersion des gènes de résistance

Tableau II : Résistance d'*E.coli* en ville en France en 2014 d'après MedQual Ville

Tableau III : Profil global de la résistance d'*E. coli* aux antibiotiques. (N=52)

Tableau IV: Profil global de la résistance d'*Enterococcus* spp aux antibiotiques testés (N=48)



Partie Théorique

INTRODUCTION

Aujourd'hui, la résistance bactérienne aux antimicrobiens est un grave problème de santé publique mondial qui progresse très rapidement. L'ère post-antibactérienne du 21^{ème} siècle est prévue par l'OMS [1]. Malgré sa mobilisation, le nombre de victimes « mortalité, morbidité » ne cesse d'augmenter, avec des prévisions de plus en plus pessimistes. Elle prévoit qu'en 2050, les maladies infectieuses résistantes aux antimicrobiens seront la première cause de décès par maladie. Il serait question de plus de 10 millions de morts par an dans le monde contre 700 000 actuellement, c'est-à-dire plus que le cancer. [2]

Au cours de cette étude, nous nous pencheront sur l'évaluation de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries sentinelles d'origine fécale : *Escherichia coli* et *Enterococcus spp* et ce, en milieu communautaire. Le principe des bactéries indicatrices, sentinelles ou indicator bacteria, est mis à profit pour l'évaluation du risque sanitaire (infections, résistance aux antibactériens...etc.) chez ces bactéries elle mêmes mais aussi, d'évaluer ce risque chez des pathogènes avérés (*Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Streptococcus spp* et *Staphylococcus spp*), qui partagent de nombreuses caractéristiques bactériologiques et épidémiologiques avec les bactéries sus visées.

Afin d'envisager d'enrayer le phénomène d'antibiorésistance, on s'est basé sur une étude bibliographique afin de mieux comprendre les mécanismes, d'avoir une vision précise de la situation actuelle, et de concevoir que tous avons un rôle à jouer : décisionnaires, professionnels de santé, et la population générale pour faire face à ce phénomène.

Le travail personnel est développé dans la seconde partie dont l'étude a été réalisée avec des prélèvements de patients *a priori* non hospitalisés.

Objectif principal de la présente étude

- Dépister les principaux profils de résistance des bactéries indicatrices {*Escherichia coli* et *Enterococcus spp*} aux différentes familles d'antibiotiques utilisés en médecine humaines et ce, en milieu communautaire.

Les objectifs secondaires

- Déterminer les mécanismes de résistance correspondant aux principaux profils dépistés.
- Développer, valider et établir des fiches techniques permettant de réaliser des études à grande échelle en matière de dépistage des bactéries indicatrices résistantes.

CHAPITRE I

**Développement des antimicrobiens à l'aire de la
résistance**

Les antibactériens sont des médicaments utilisés pour traiter et prévenir les infections bactériennes. La résistance survient lorsque les bactéries évoluent en réponse à l'utilisation de ces médicaments. [3]

1. Historique du développement et de la résistance aux antibactériens

1.1. Historique d'introduction des antibactériens

-De 1940 à 2005, nous avons assisté à la découverte et à la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques dont la chronologie est présentée par la Figure 1.[4]

Aujourd'hui, il n'y a aucune molécule en phase de développement efficace.

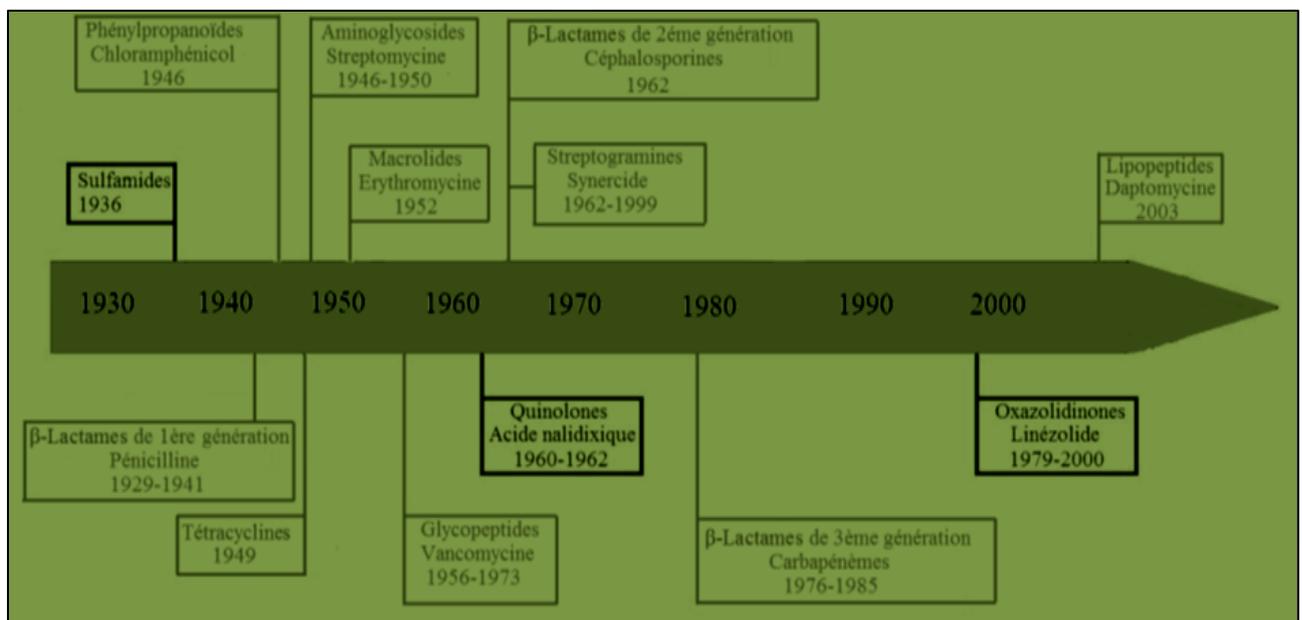
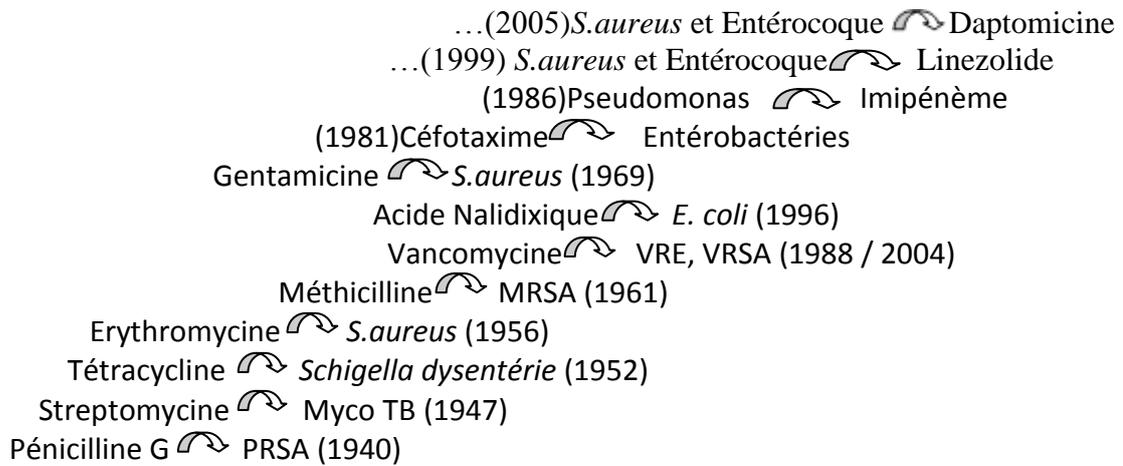


Figure 1 : La découverte des antibiotiques entre 1929 et 2003. (Singh et Barrett, 2006) [28]

1.2. L'évolution de la résistance microbienne

Après une période de forte efficacité contre les maladies infectieuses, les antibiotiques se présentent de moins en moins efficaces face à certaines infections bactériennes. Dès 1940, juste après la découverte de la pénicilline, autre que la pénicilline G, Abraham et Chain avaient mis en évidence l'existence de résistance à cet antibiotique chez *E. coli* [5]. Les bactéries s'adaptent aux antibiotiques et deviennent résistantes.

L'évolution de la résistance bactérienne ça devient de plus en plus un problème mondial :



1920 1930 1940 1950 1960 1970 1980 1990 2000
Figure 2 : Acquisition des résistances au cours du temps. {Entre 1920 et 2000} [12]

Matthew Dryden-Clinical director of Microbiology and Communicable Disease Royal Hampshire hospital winchester, UK

2. Les enjeux sanitaires de la dissémination de la résistance et du développement de nouveaux antibiotiques

Compte tenu de la facilité et de la fréquence des déplacements dans le monde actuel, la résistance aux antibiotiques est un problème mondial, qui exigera des efforts de la part de tous les états et de nombreux secteurs. [6]

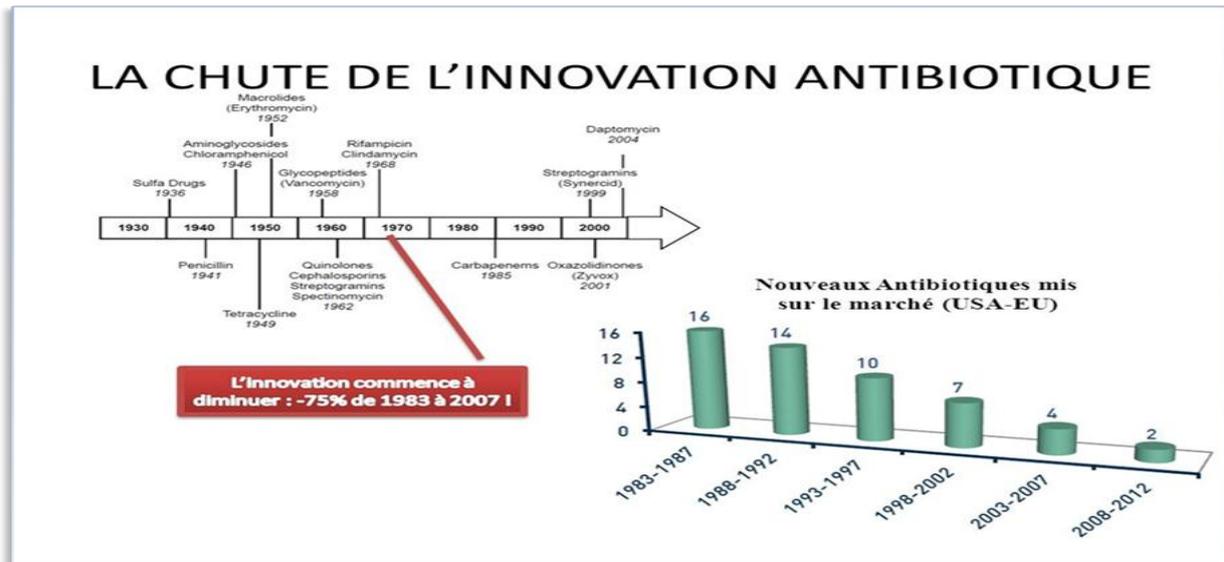


Figure 3 : Développement des antibiotiques vers les années : de moins en moins de nouveaux antibiotiques {De nouveaux Antibiotiques: l'innovation contre la résistance publié le 10 février 2017}

2.1. Les enjeux sanitaires de la dissémination de la résistance

Le financement de la santé en Algérie revêt une particularité spéciale du fait qu'il est basé sur une contribution forfaitaire de l'état, de la sécurité sociale, et celle des ménages.

L'absence de contraintes financières avait favorisé un accès élargi des populations aux soins entraînant une forte augmentation des dépenses de santé, due à la fois au renchérissement des prix des médicaments. [10]

Réduction du déficit budgétaire, ralentissement de l'inflation, dévaluation du dinar, excédent commercial et augmentation du niveau des réserves en devises, tout aura été plus ou moins atteint. [11] L'évolution épidémiologique et démographique importante, les coûts des frais sanitaires qui sont élevés... [10]

L'absence de stratégies pharmaceutiques en Algérie a induit un retard estimé de 10 à 20 ans sur ses voisins à cause de son manque de prospective.

- Réduction considérable du rythme de développement d'antibiotiques [12] :
 - L'augmentation du temps nécessaire à la commercialisation d'un nouveau médicament.
 - Investissement dans le domaine des antibiotiques n'est pas intéressant (faible viabilité commerciale)
 - Tout nouvel antibiotique commercialisé sera très certainement accompagné de directives en limitant l'emploi aux seuls cas où tous les autres traitements ont échoué.
 - Apparition des bactéries qui deviennent des propriétés sanitaires, par exemple [9] :
 - *Les Enterobacteriaceae, carbapénème-résistant, céphalosporine de 3^{ème} génération-résistant.
 - **Enterococcus faecium* : Vancomycine-résistant.
 - **Streptococcus pneumoniae* : Pénicilline non susceptible.

Le développement rapide de la résistance microbienne après l'apparition d'un nouveau antibactérien, diminue la recherche.

De nouveaux mécanismes de résistance apparaissent et se propagent dans le monde entier, compromettant notre capacité à traiter les maladies infectieuses courantes. Pour un nombre croissant d'infections, comme la pneumonie, la tuberculose, la septicémie et la gonorrhée, le traitement devient plus difficile, voire impossible parfois, du fait de la perte d'efficacité des antibiotiques. [7]

2.2. Les nouveaux antibiotiques : Mécanisme et cibles microbiologiques [8]

-Pour combattre la résistance, il faut améliorer la prévention des infections et l'usage approprié des antibiotiques chez l'homme comme chez l'animal, de même que l'usage rationnel de nouveaux antibiotiques qui seront mis au point à l'avenir. [8]

-En Février 2017 : L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a publié sa première liste «d'agents pathogènes prioritaires» résistants aux antibiotiques. Dr Marie-Paule Kieny, indique que «La résistance aux antibiotiques augmente et nous épuisons rapidement nos options thérapeutiques. Si on laisse faire le marché, les nouveaux antibiotiques dont nous avons le besoin le plus urgent ne seront pas mis au point à temps.» [7]

Quelques exemples de nouveaux antibiotiques

- Tedizolide : Oxazolidinone {Linezolide}
 - Bactériostatique.
 - Active sur les bactéries à gram + dont Streptocoque β hémolytiques A, B, C et G.
- Ceftaroline : Céphalosporine de 5^{ème} génération à spectre large.
 - Bactéricide.
 - Active sur les SARM, pas d'activité sur les BLSE.
- Ceftobiprol : Céphalosporine de 5^{ème} génération.
 - Activité sur les SARM.
 - Activité anti Gram négatif supérieure à celle de ceftaroline.
 - Inactif sur les entérocoques. (Résistance naturelle)
 - Actif sur les entérobactéries mais inactif sur BLSE.
- Temocilline : Pénicilline dérivée de la ticarcilline
 - Bactéricide.
 - Son spectre étroit : BGN, par exemple les Entérobactéries.
 - Sa stabilité vis-à-vis des β lactamases, mais : Hydrolysée par les métallo- β -lactamase.
- Association Ceftolozane/tazobactam : Céphalosporine de 3^{ème} génération, un inhibiteur de β -lactamase : Spectre large.
 - Pseudomonas aeruginosa*.
 - Entérobactéries Case et BLSE.
- Association ceftazidime/avibactam : Spectre de la ceftazidime + inhibition large de β -lactamases
 - Peu d'activité sur : Gram + ; Acinetobacter ; Anaérobies.

Bien que de nouveaux antibiotiques soient en cours de développement, aucun d'entre eux ne sera sans doute efficace contre les formes les plus dangereuses de bactéries résistantes aux antibiotiques.[6]

CHAPITRE II

**La résistance bactérienne aux antibactériens en
milieu communautaire**

1. Définitions

-**Résistance** : toutes les bactéries ne sont pas sensibles à l'action de tous les antibiotiques.

Celles qui ne sont pas tuées ou dont la croissance n'est pas inhibée par un antibiotique sont dites « résistante » à cette antibiotique. [13]

-**Résistance naturelle ou intrinsèque**: est une caractéristique propre à une espèce bactérienne donnée, liée au «fond génétique : ADN » de l'espèce. On parle alors du caractère normal ou «sauvage » du comportement (ou du phénotype) de l'espèce vis-à-vis des antibiotiques. [14]

-**Résistance acquise** : propre à certaines souches ayant, par rapport à l'espèce à laquelle elle appartient, un comportement vis-à-vis des antibiotiques (ou phénotype) « anormal » qui est le résultat de modifications génétiques.

→ Chromosomiques : secondaires à une mutation portant sur le chromosome

→ Extra-chromosomiques : par acquisition de gènes le support est un plasmide ou un transposon ou intégrons acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction. [14]

-**Mutation** : apparition brusque dans une population bactérienne homogène d'une bactérie présentant un caractère différent. Transmission à toute la descendance = héréditaire. [15]

-**Pression de sélection** : ensemble de conditions de l'environnement qui favorisent l'émergence des bactéries possédant des gènes de résistance : sélection des mutants spontanés, sélection des bactéries qui ont reçu un gène de résistance par transfert. [16]

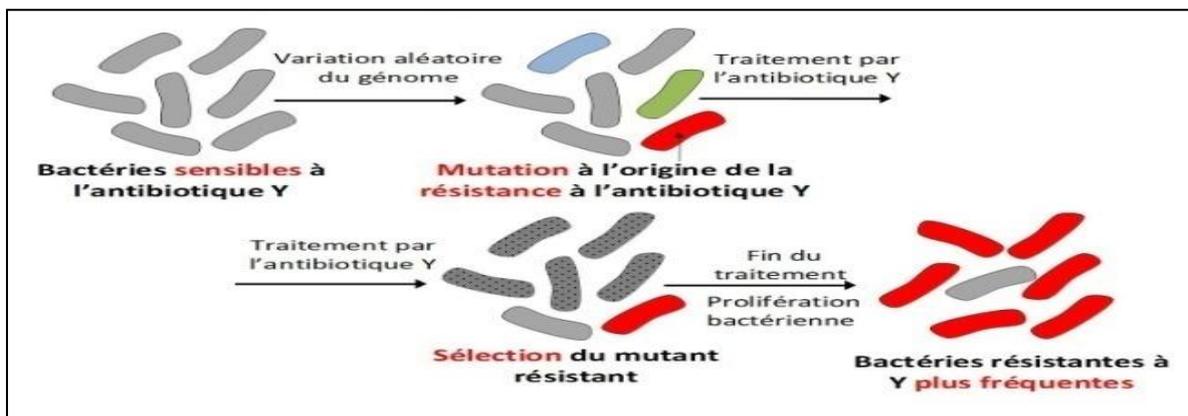


Figure 4 : Emergence de résistances aux antimicrobiens. [18]

-On parle: **bas niveau de résistance** si la croissance est stoppée par de faibles concentrations d'antibiotique et de **haut niveau de résistance** si de fortes concentrations sont nécessaires.

[17]

-**Résistance croisée**: lorsqu'une résistance à un antibiotique engendre une résistance à un autre composé par un seul et même mécanisme biochimique, peut survenir parmi tous les

membres d'une classe d'antibiotiques, ou encore impliquer des antibactériens appartenant à des classes différentes. [19]

-**Co-résistance** : 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. [19]

-La bactérie peut être résistante un antibiotique, une famille, plusieurs familles
multirésistantes BMR : résistance à plus de 3 familles différentes et **hautement résistante BHR** : résistance à plusieurs familles d'ATB majeurs dont les ATB de derniers recours.

Exemple : *S.aureus* résistant aux glycopeptides, entérobactéries résistantes aux carbapénèmes.

BHR  **dont BHRe (Emergente)**

Parmi ces BHR, celles qui ont un haut potentiel épidémique en ville, un mécanisme de résistance transférable, un mode de diffusion sporadique ou épidémique limité en France, commensales du tube digestif. Exemple: Entérobactéries sécrétrices de carbapénémase. [20]

- Voir une résistance à tous les antibiotiques actuellement connues **toto résistante**.

Exemple : *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*

2. Mécanisme d'action et de résistance aux principales familles d'antibiotiques chez *Escherichia coli* et *Enterococcus spp*

(Ces espèces sont considérées comme des bactéries sentinelles: plus de détails dans le chapitre III)

2.1 Mode d'action de principales familles d'antibiotiques

a-bêta lactamines

-Elles agissent en bloquant la synthèse du peptidoglycane, constituant commun des bactéries à gram négatif et positif en inhibant les enzymes essentielles à la synthèse : les transpeptidases et les carboxypeptidases, appelées protéines de liaison à la pénicilline PLP. La fixation de l'antibiotique empêche celle du substrat naturel (Acyle D-ALA-D-ALA) qui présente une analogie structural avec le cycle bêta lactame. La synthèse du peptidoglycane est alors inhibée, la bactérie n'est plus protégée du milieu extérieur et du milieu hostile, ce qui se traduit par une lyse bactérienne. [21]

b- Aminosides

Les antibiotiques agissent en perturbant l'intégralité de la membrane externe et de la membrane plasmique des bactéries en se fixant sur l'ARN ribosomal sur la sous unité 30S

avec une forte affinité : ce qui entraîne des erreurs de la lecture des ARN messagers donnant des protéines anormales qui s'incorporent à la membrane et l'altère. [21]

c-Phénicolés

Ils agissent en inhibant la synthèse protéique en se fixant au niveau de la sous unité 50S des ribosomes et empêchent la transpeptidation de l'ARN de transfert. [21]

d-Quinolones

Inhibent l'ADN gyrase qui change la topologie de l'ADN. Elles se fixent sur la sous unité A de la gyrase et entraînent une fragmentation de l'ADN, responsable de la mort de la bactérie. [21]

e-Cotrimoxazole

Inhibe la synthèse des acides nucléiques en agissant sur les 2 enzymes principales de la voie de synthèse des bases puriques : le sulfaméthoxazole inhibe la dihydrofolate synthétase et le triméthoprimine la dihydrofolate réductase. [21]

f-Fosfomycine

Inhibe la synthèse de la paroi bactérienne. Par analogie à la phosphoénolpyruvate la fosfomycine inhibe la pyruvate-UDP-N-acétylglucosamine-transférase et ainsi bloque la formation d'acide N-acétylmuramique (peptidoglycane).[21]

g-Furanes

Prodrogues dont certaines bactéries peuvent réduire le radical (-NO₂) ce qui fait apparaître un dérivé toxique pour l'ADN par substitutions de bases ou cassures : agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions coupures et substitution de bases. [22]

2-2 Supports génétiques de la résistance

Tableau I : Caractéristiques de différents éléments génétiques impliqués dans la dispersion des gènes de résistance.

Elément génétique	Caractéristiques	Rôles
Plasmide conjugatif	<ul style="list-style-type: none"> - Circulaire - Elément de répllication autonome - Présence des gènes nécessaires au transfert par conjugaison 	<ul style="list-style-type: none"> - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance
Plasmide mobilisable	<ul style="list-style-type: none"> - Circulaire - Elément de répllication autonome - Présence des gènes permettant d'utiliser l'appareil de conjugaison d'un plasmide conjugatif 	Transfert de gènes de résistance
Transposon et ISCR	Capacité de déplacement depuis un segment d'ADN vers un autre à l'intérieur d'une bactérie	Transport de gènes de résistance du chromosome vers un plasmide et vice versa
Transposon conjugatif	<ul style="list-style-type: none"> -Elément intégré pouvant s'exciser pour former un intermédiaire de transfert non réplicatif - Présence des gènes nécessaires au transfert par conjugaison 	<ul style="list-style-type: none"> - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance
Cassette de gène	<ul style="list-style-type: none"> - Circulaire - Segment d'ADN non réplicatif - Présence seulement d'une fenêtre de lecture ouverte - Intégration dans les intégrons 	Porte des gènes de résistance
Ilot génomique et EIC	<ul style="list-style-type: none"> - Segment d'ADN chromosomique - Présence des gènes nécessaires aux déplacements et au transfert par conjugaison 	<ul style="list-style-type: none"> - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance
Bactériophage	<ul style="list-style-type: none"> - Virus de bactérie - Circulaire ou non - Elément de répllication autonome 	<ul style="list-style-type: none"> - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance
Fragment d'ADN isolé dans le milieu	Transféré par transformation d'une bactérie compétente	Porte des gènes de résistance

❖ chromosome

-Sélection des mutants résistant=> transmission verticale (par filiation)

-Transformation et recombinaison par gènes résistants étrangers chez les bactéries naturellement transformables (pneumocoque, gonocoque) => transmission horizontale (d'une bactérie à une autre)

❖ Plasmide ou élément génétique transférable: intégrons, transposon

-Conjugaison

-Transposition

-Transmission horizontale et verticale

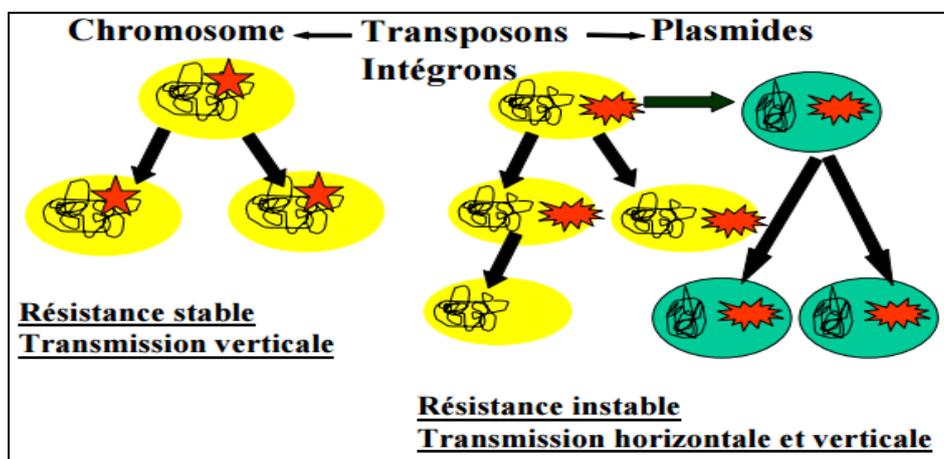


Figure 5 : Supports de gènes de résistance. [24]

2-3 Mécanismes de résistance [voir annexe 6]

a- Chez *Escherichia coli*

✚ β-lactamines

- **Résistance par production d'enzyme (bêta lactamases)**

Chez les bactéries normalement sensibles aux bêta lactamines, il s'agit du mécanisme de résistance le plus important. Les bêta lactamases sont des enzymes capables d'hydrolyser les antibiotiques en ouvrant le cycle bêta lactames.

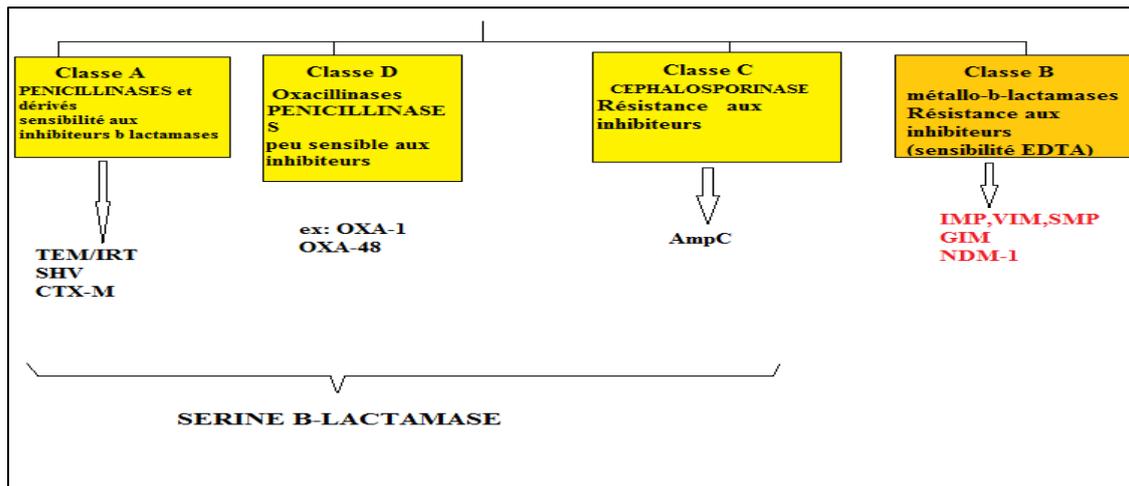


Figure 6 : Différentes classes de bêta-lactamases selon la classification d'Ambler. [19]

Schématiquement, les bêta lactamases peuvent être individualisées en pénicillinasés et céphalosporinasés.

1/ Pénicillinasés

-Elles hydrolysent préférentiellement les pénicillines. Les gènes codant pour les pénicillinasés sont portés essentiellement par un plasmide.

Ces pénicillinasés sont fabriquées en permanence par la bactérie. Il existe une très grande variété de pénicillinasés : TEM, SHV, OXA...

L'enzyme type TEM inactive les carboxypénicillines, aminopénicillines, uréidopénicillines.

- Ces bêta lactamases sont inhibées par les inhibiteurs de bêta lactamases comme l'acide clavulanique et tazobactame. Une augmentation importante de la production de β -lactamases peut être responsable de la résistance aux inhibiteurs de bêta lactamases sont appelée IRT (Inhibitor resistant TEM). Les BLSE dérivent par mutation ponctuelle de β -lactamase déjà connu : BLSE type : TEM SHV OXA CTX-M PER VEB. [21]

⇒ BLSE de type CTX-M (Céfotaximase -Munich) :

Ces enzymes hydrolysent préférentiellement le céfotaxime, d'où leur nom de céfotaximases. En effet, les bactéries productrices de CTX-M sont résistantes au céfotaxime et plus ou moins sensibles à la ceftazidime .Au niveau structural, les CTX-M ne sont pas proches des β -lactamases de type TEM ou SHV. A ce jour, de nombreux variant de CTX-M ont été décrits, et sont classés en 6 groupes phylogénétiques distincts : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45. [19]

2/ Céphalosporinasés

-Chez 7% des souches d'*Escherichia coli*, on met en évidence une céphalosporinasés non inductible. Sa présence est due à l'augmentation par mutation de la production de la

céphalosporinase chromosomique naturelle. Elle inactive les pénicillines A, les C1G et la céfoxitine. Les autres C2G, les C3G, l'aztréonam et les pénèmes restent actifs tandis que les carboxy et uréidopénicillines ont une activité légèrement diminuée mais encore suffisante.

-Elles sont codées par un gène appelé AmpC, hydrolyse préférentiellement les C1G. La production normalement inductible de ces céphalosporinase est sous le contrôle de différents gènes qui, s'ils sont mutés, vont aboutir à une hyperproduction spontanée de niveaux variables de la céphalosporinase. Une fois hyper produites elles peuvent hydrolyser les C3G et entraîner la résistance à ces antibiotiques. Actuellement 20% produisent constitutivement une céphalosporinase et sont résistantes aux C3G. Depuis 1990 des céphalosporinases codées par des gènes plasmidiques, ont été décrites parmi celle-ci, il ya MIR-1 et BIL-1, CMY-2.[21]

- les amidases

Elles hydrolysent la chaîne latérale des bêta lactamines et libère l'acide amino -7 - céphalosporinique dans le cas des céphalosporines et l'acide 6-pénicillique dans le cas des pénicillines. [21]

- les estérases

Ces enzyme coupent la chaîne latérale des céphalosporines, les rendent inactif.

- **Modification des porines ou de protéines de la membrane externe**

-Rôle de la perméabilité dans la résistance d'*E.coli* aux β -lactamines :

La pénétration des β -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe constituée de phospholipides, s'effectue à travers les porines qui sont les canaux protéiques remplis d'eau. La sensibilité aux antibiotiques dépend du nombre de porines fonctionnelles. Chez *E coli*, la relation entre les porines et les β -lactamases a été mieux étudiée. 2 types de porines sont présents chez *E coli* (OmpC et OmpF). Chez les mutants OmpC-, la pénétration des β -lactamines n'est pas diminuée car le diamètre de la porine OmpF est suffisamment large. Au contraire, l'absence d'OmpF s'accompagne d'une résistance à la céfoxitine (4 fois la CMI) sans modification de CMI pour la céfaloridine.

-Ces résultats témoignent d'un passage préférentiel de β -lactamines à travers la porine OmpF car plus large. Quant aux mutant OmpC- et OmpF- leurs CMI sont augmentées d'une manière très importante. [21]

- **Modification des PLP**

L'efficacité des bêta lactamines est liée à leur capacité de se fixer aux PLP. La liaison (antibiotique/cible) est liée à la structure de la cible. Diverses mutations peuvent entraîner des

modifications diminuant l'efficacité de l'antibiotique. Le rôle des PLP dans la résistance chez les mutants intrinsèques a été mis en évidence chez les mutants d' *E coli* qui avait une résistance augmentée aux mécillinam et l'imipénème, due à une diminution de l'affinité des PLP-2 pour les antibiotiques alors que les mutations touchant la PLP-3 s'accompagnaient d'une résistance vis-à-vis des céphalosporines. [21]

- **Altération des lipopolysaccharides**
- **Tolérance bactérienne**

Une bactérie est dite tolérante lorsqu'ayant conservé la même sensibilité (même CMI) vis-à-vis d'un antibiotique bactéricide. Il existe une augmentation considérable de la CMB avec un rapport : CMB /CMI supérieur à 32. L'effet bactériostatique persiste alors que l'effet bactéricide de l'antibiotique disparaît. L'absence d'activation de système lytique normalement activé explique ce phénomène. Ce dernier est surtout marqué pour les β -lactamines vis-à-vis des streptocoques.

- **Persistance bactérienne**

On observe une persistance du germe *in vivo* en présence de l'antibiotique. Ceci s'explique par une perte ou une diminution structurelle ou fonctionnelle d'un gène avec comme conséquence une modification du métabolisme bactérien. Ce phénomène a été observé avec les β -lactamines mais également avec les autres antibiotiques.

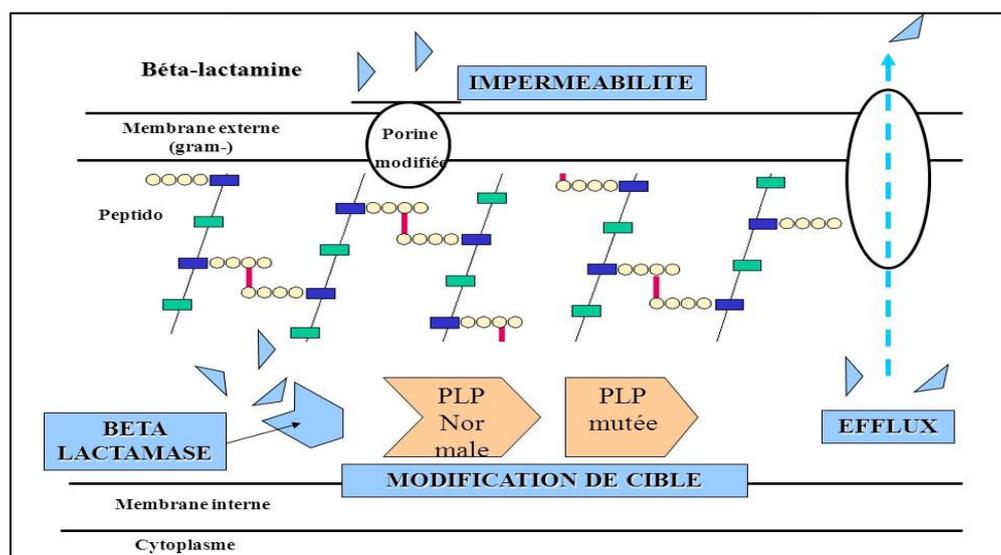
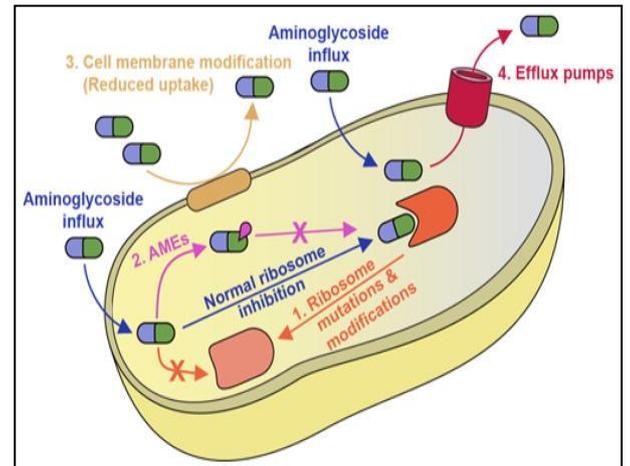


Figure 7 : Mécanisme de résistance des β -lactamines. [25]

✚ Aminosides

• Altération de la cible

Le changement d'un seul acide aminé dans une protéine ribosomale entraîne une diminution de l'affinité du ribosome pour un antibiotique. Ces mutants résistants ne constituent pas un problème en thérapeutique : ils sont rare en clinique et impliquent pour la plupart des mutations multiples pour atteindre un haut niveau de résistance. Et enfin, du fait de l'absence de chevauchement des sites de fixation de divers aminosides sur les ribosomes ils ne présentent pas une résistance croisée envers les autres membres de la famille. [21-26]



• Modification du transport de l'antibiotique

La pénétration des aminosides dans les bactéries est un phénomène de :

- Diffusion passive à travers les porines de la membrane externe.
- Transport actif requérant de l'énergie au niveau de la membrane interne.

Les CMI sont faiblement augmentées et ce type de résistance est de détection délicate. Les mutations qui affectent le système actif de transport entraînant une diminution de l'accumulation d'antibiotique dans la cellule. [21]

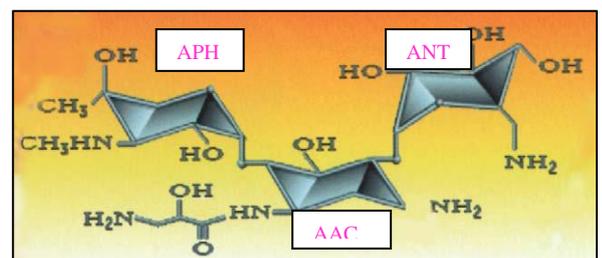
• Détoxification enzymatique des antibiotiques

La modification enzymatique méditée par les plasmides constitue le mécanisme de résistance à ces antibiotiques le fréquemment rencontré en clinique.

C'est ce troisième mécanisme d'origine plasmidique prédominant chez l'entérocoque qui est responsable de l'apparition de souche hautement résistante aux aminosides.

Ces enzymes sont classées en 3 catégories en fonction de la réaction qu'elles catalysent (nucléotidation, phosphorylation, acétylation) sont nommées en fonction de leur substrats.

Enzymes : APH, ANT, AAC. [21-23]



Enzymes modificatrices :

APH : phosphotransférase

ANT : nucléotidyltransférase

AAC : acétyltransférase

✚ Quinolones

La résistance est presque toujours de valeur chromosomique. Il s'agit d'une mutation dont la traduction sera soit une diminution de la perméabilité de l'antibiotique, soit une modification de la cible par altération de la sous unité de la gyrase [21]. La résistance aux quinolones peut aussi être transférée par des plasmides porteurs de gène responsable, *qnr* (Quinolone Résistance) qui sont recherchés par des techniques de biologie moléculaire (Wang et al, 2004b; Nasic et al, 2005). Le gène *qnr* a été retrouvé en Algérie chez des entérobactéries (Labadene et al., 2008).

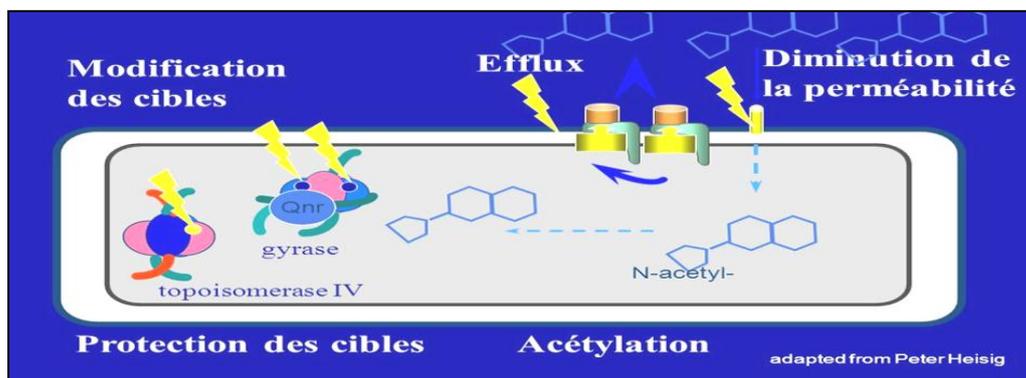
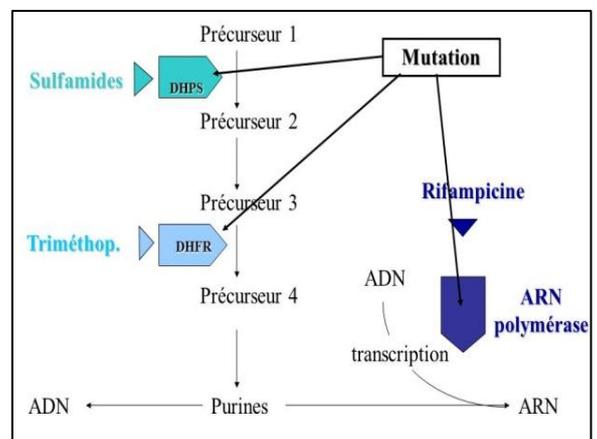


Figure 8 : Mécanisme de résistance aux quinolones. [27]

✚ Cotrimoxazole

Le mécanisme le plus souvent décrit ici concerne la cible de l'antibiotique. Celle-ci est substituée et donc n'est plus reconnue par l'antibiotique. L'autre mécanisme mis en évidence au cours de la résistance aux sulfamides et triméthoprimes concerne celui de la perméabilité de la bactérie à ces molécules. [21-25]



✚ Macrolides et apparentés

Une des caractéristiques des bacilles gram- est d'être résistant spontanément aux macrolides et aux substances apparentées. Chez les autres espèces bactériennes, la résistance acquise est due à des plasmides qui codent pour la sécrétion d'une méthylase qui elle-même va induire l'altération du ARN ribosomal 23S. L'existence des mutants chromosomiques résistants a été prouvée. [21]

✚ Fosfomycine

Diminution de pénétration intracytoplasmique par inactivation du transport actif après mutation chromosomique, le taux élevé de mutation impose l'utilisation de la fosfomycine en association. La résistance plasmidique (moins fréquente) s'explique par inactivation de l'antibiotique par l'ouverture du noyau époxyde catalysé par une glutathion S transférase conduisant à la formation d'un composé inactif. [21]

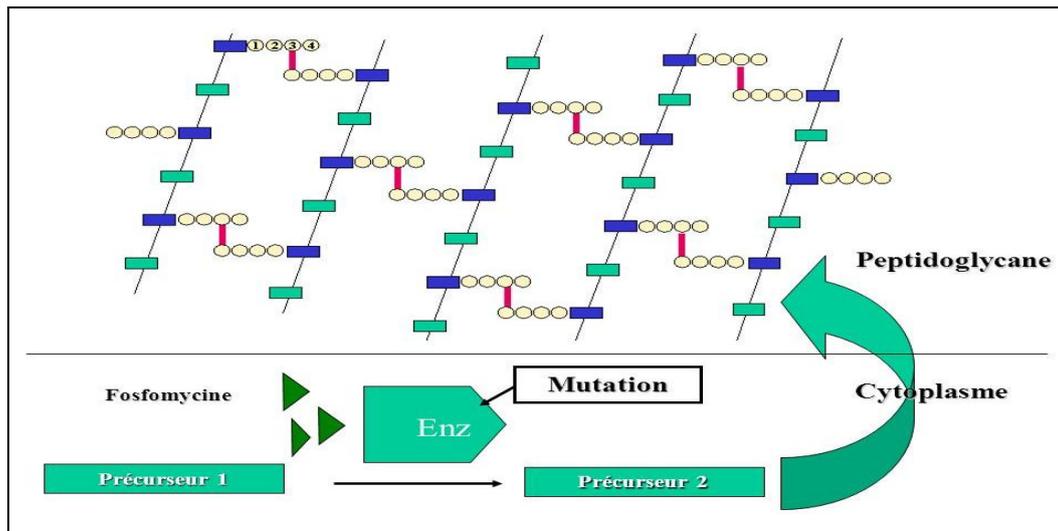


Figure 9 : Mécanisme de résistance d'*E.coli* à la fosfomycine. [25]

b. chez *Enterococcus spp*

✚ β -lactamines

Les β -lactamines agissent par inhibition des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) qui ont essentiellement une fonction D, D-transpeptidase (intervenant dans la biosynthèse et le remodelage du peptidoglycane). Il existe de nombreuses classes de PLP, le profil et le nombre de chaque PLP varie en fonction de l'espèce bactérienne. Les D, D-transpeptidases décrites chez les entérocoques sont multimodulaires et réparties en deux classes : classe A (à activité transglycosylasique et transpeptidasique) et classe B (à activité transpeptidasique). L'analyse du génome d'*Enterococcus faecium* et d'*Enterococcus faecalis* a permis de mettre en évidence trois PLP de classe A et trois PLP de classe B. À noter que l'association des PLP avec les aminosides est synergique sur les entérocoques tandis que l'effet est additif ou indifférent avec les fluoroquinolones. [28]

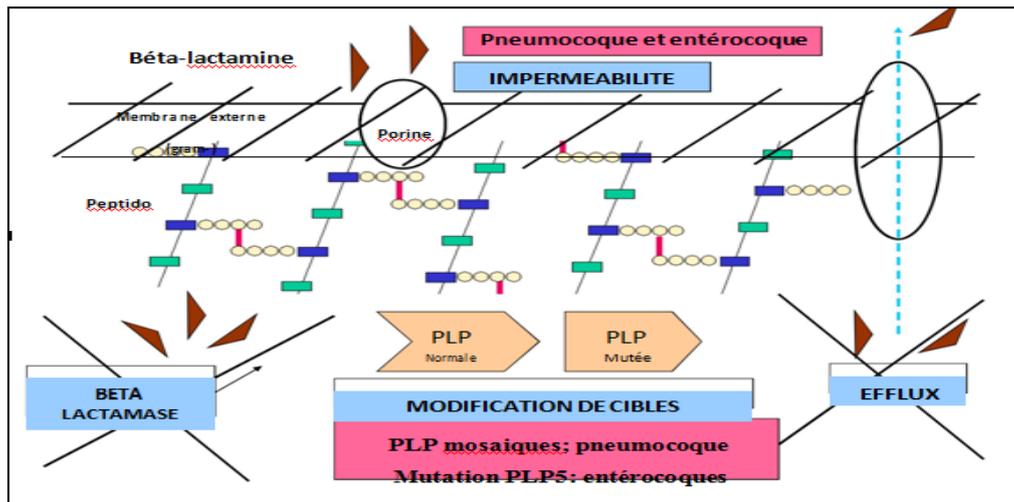


Figure 10 : mécanisme de résistance d'*Enterococcus* spp aux β lactamines.[25]

○ Résistance naturelle

Les entérocoques possèdent une PLP5 présentant une faible affinité pour les β -lactamines, expliquant notamment la résistance aux céphalosporines et l'augmentation de 10 à 100 fois des CMI des PLP par rapport à celles des streptocoques.

○ Résistance acquise

Chez *Enterococcus faecium*, la résistance aux β -lactamines est fréquente et elle est due à des mutations au niveau de la PLP5, associées ou non à une hyperproduction.

La production de pénicillinase plasmidique transférable à exceptionnellement été décrite chez les souches d'*Enterococcus faecalis* aux États Unis, Argentine et Liban mais jamais en Europe. Cette pénicillinase, dont l'expression est constitutive, est sensible à l'action des inhibiteurs de β -lactamases. Cette résistance est souvent associée à une résistance de haut niveau à la gentamicine. [28]

✚ Glycopeptides

Les glycopeptides représentent une famille d'antibiotiques bactéricides à spectre d'action étroit dirigé contre les bactéries à gram positif. Les représentants majeurs en médecine humaine sont la vancomycine et la téicoplanine. Les glycopeptides, ne pénétrant pas dans le cytoplasme, agissent donc à l'extérieur de la bactérie, lors des dernières étapes de maturation du peptidoglycane. Plus précisément, la molécule se fixe avec grande affinité à l'extrémité des précurseurs du peptidoglycane se terminant par le dipeptide D-alanyl-D-alanine. La fixation provoque un encombrement stérique qui empêche le branchement du précurseur au peptidoglycane en cours d'élongation et bloque ainsi les étapes finales de formation de la paroi bactérienne.

- Résistance naturelle

La résistance naturelle est observée chez *Enterococcus gallinarum* et *Enterococcus casseliflavus*. En effet, ces espèces contiennent au niveau chromosomique un opéron vanC qui confère une résistance de bas niveau à la vancomycine tandis que la téicoplanine reste active.

- Résistance acquise

Le mécanisme moléculaire de la résistance aux glycopeptides chez les entérocoques est une modification de la cible de l'antibiotique : le dipeptide de l'extrémité du précurseur. À la chaîne enzymatique habituelle, se substitue une chaîne métabolique alternative permettant la synthèse de précurseurs modifiés ayant une faible affinité pour la vancomycine. Ces précurseurs modifiés se terminent par un dipeptide D-alanyl-D-lactate ou D-alanyl-D-sérine au lieu de D-alanyl-D-alanine. À ce jour, 9 types de résistance aux glycopeptides ont été décrites chez les entérocoques, dont VanA et VanB sont les plus fréquents. [28]

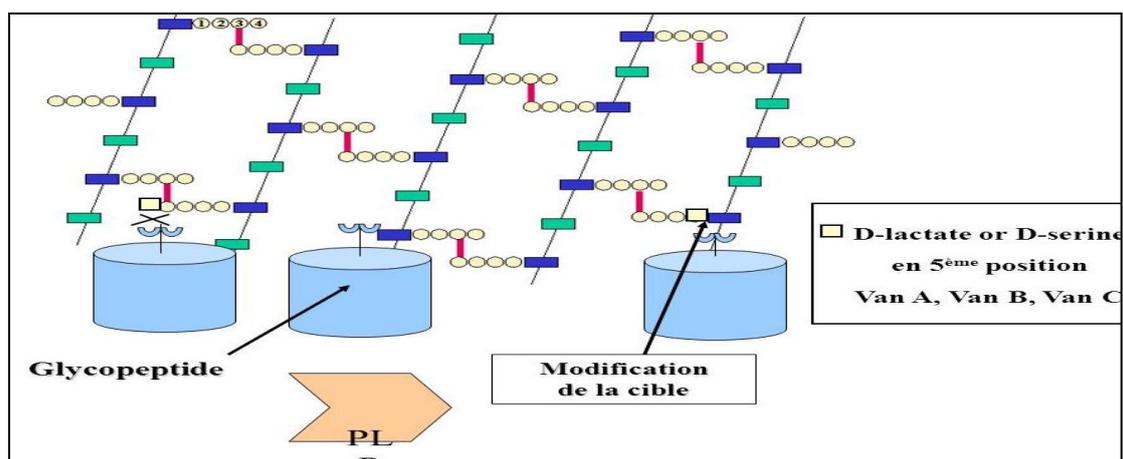


Figure 11 : Mécanisme de résistance aux glycopeptides d'*Enterococcus* spp. [25]

✚ Aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides qui agissent en se liant principalement à l'ARN ribosomal 16S de la sous-unité 30S du ribosome bactérien, altérant ainsi la synthèse protéique de la paroi bactérienne. Bien que les entérocoques fassent partie des espèces bactériennes présentant une résistance de bas niveau aux aminosides, ces derniers sont toute fois utilisés pour leurs activité synergique avec les β -lactamines et les glycopeptides dans le traitement des infections sévères à entérocoques.

- Résistance naturelle

La pénétration des aminosides au niveau du cytoplasme bactérien nécessite l'implication de la force proton-motrice produite par la chaîne respiratoire, qui est incomplète chez les streptocoques et les entérocoques (expliquant la résistance de bas niveau) et absente chez les

bactéries anaérobies strictes (expliquant la résistance de haut niveau). De plus, l'espèce *Enterococcus faecium* produit naturellement une enzyme chromosomique, l'aminoside acétyltransférase AAC(6')-II, qui inactive tous les aminosides sauf la streptomycine et la gentamicine.

○ Résistance acquise

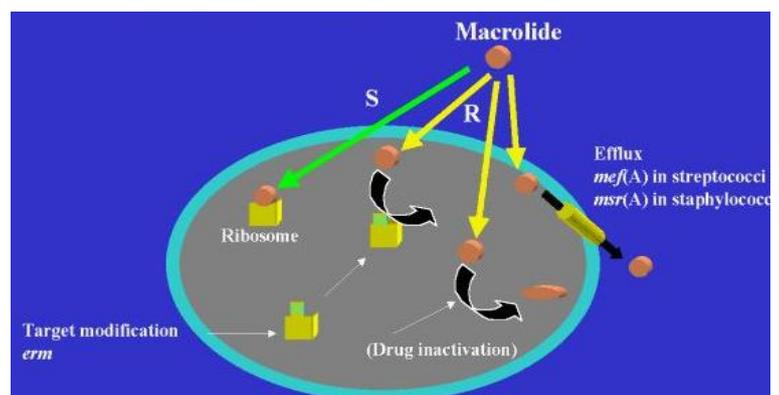
Trois mécanismes de résistance peuvent être retrouvés chez les entérocoques : altération de la cible ribosomale par mutation chromosomique, défaut de perméabilité et inactivation enzymatique. Le dernier mécanisme est le plus fréquent avec trois classes d'enzymes :

aminoside-O phosphotransférase (APH), aminoside-O acétyltransférase (AAC) et aminoside-O nucléotidyltransférase (ANT). Les souches d'entérocoques peuvent ainsi porter jusqu'à trois gènes de résistance aux aminosides. Le gène *aac(6')-Ie-aph(200)-Ia*, porté par un transposon ou un plasmide, code pour une enzyme bifonctionnelle AAC (6')-APH(200) exprimé par plus de 90 % des entérocoques présentant une résistance de haut niveau à la gentamicine. Les autres enzymes communément identifiées sont codées par les gènes *aph(200)-Ic*, *aph(200)-Id*, ou *aph(200)-Ib*. [28]

✚ **Macrolides-lincosamides-streptogramines**

Les macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS) sont des antibiotiques distincts chimiquement mais regroupés de par leurs modes d'action proches. Ils inhibent la synthèse protéique en se liant à la sous-unité 50S du ribosome au niveau du centre peptidyltransférase.

L'espèce *Enterococcus faecalis* présente une résistance naturelle aux lincosamides et aux streptogramines A (phénotype LSA), associée au gène *lsa*, spécifique de l'espèce. Ce type de résistance s'observe également chez *Enterococcus avium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus*, contrairement aux



espèces *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans* et *Enterococcus hirae* qui sont naturellement sensibles aux lincosamides et aux streptogramines A. [28-29]

○ Résistance acquise

La résistance acquise est le fait de trois mécanismes : une modification de cible bactérienne par méthylation du site de fixation de l'antibiotique (gènes *erm*, correspondant au phénotype MLSB), une modification enzymatique de l'antibiotique (gènes *lnu*, correspondant au

phénotype L) ou un efflux actif (gène *mef*, correspondant au phénotype M et le gène *mcrC*, ubiquitaire chez *E.faecium*). [28]

3. Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance

L'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques sont le résultat d'une pression sélective exercée par les agents antibactériens et de la transmission de micro-organismes résistants. Le principale facteur est la surconsommation des antibiotiques en ville, la France est classé le premier pays consommant les antibiotiques.



Figure 12 : Emergence et dissémination de la résistance aux antimicrobiens. [30]

3.1 Facteurs humains

- Usage abusif d'antibiotiques
- Gravité accrue de l'état des malades hospitalisés
- Manque de fidélité au traitement
- Durée trop courte ou dose sous-thérapeutique
- Diagnostic non confirmé d'infection bactérienne
- Utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en développement
- Mesures d'hygiène inadéquate dans les hôpitaux
- Non-respect des directives de lutte contre les infections
- Promiscuité des patients hospitalisés
- Déplacement accrus des patients : transfert de patients colonisés ou infectés entre hôpitaux et milieu communautaire.
- Voyages internationaux

4.2 Conséquences économiques

Cette résistance pourrait faire 10 millions de morts supplémentaires par an d'ici 2050, selon une grande étude britannique soit plus que le cancer actuellement. Cela coûterait jusqu'à 100.000 milliards de dollars à l'économie mondiale (enjeu économique mondial). [32]

5. Détection au laboratoire

▪ Détection phénotypique

-Antibiogramme manuel ou automatisé: liste des molécules utiles au traitement : selon le germe isolé et le site d'isolement (norme CLSI : contribue à créer des normes et des lignes directrices concernant les tests cliniques et de laboratoire utilisés dans les communautés de soins de santé et de dépistage médical. Ces normes garantissent une précision, adopter des protocoles efficaces, minimiser le risque de contamination).[33]

-Tests complémentaires : double disque, synergie, β -lactamase,...

- Mesure de la CMI en milieu liquide et solide

-E-test

-autres méthodes semi automatisées et automatisées (exemple : BACTEC)

▪ Détection génotypique

-PCR

-Séquençage

-Spectrométrie de masse

-Un diapason en mode vibreur : des scientifiques suisses ont imaginé un diapason microscopique qui oscillerait grâce aux légères vibrations induites par le métabolisme des bactéries. Un procédé qui réduirait très fortement les coûts et les délais pour déterminer le traitement adéquat et pourrait sauver des vies. [34]

6. Epidémiologie de la résistance bactérienne chez les principales bactéries isolées en milieu communautaire

6.1 *Escherichia coli*

Tableau II: Résistance d'*E.coli* en ville en France en 2014 d'après MedQual Ville. [35]

E coli	résistance
Amoxicilline	46,28%
Amoxicilline/acide clavulanique	36,10%
Céfixime	5,56%
Norfloxacine	17,37%
Ofloxacine	17,72%
Ciprofloxacine	12,16%
Cotrimoxazole	20,01%
Nitrofurantoïne	1,33%
Fosfomycine	1,21%

-Le pourcentage de résistance (R+I) d'*E .coli* aux antibiotiques en Algérie, 2015 selon AARN est de 78.9% AMP, 45% AMC, 18.69% CTX, 0.28% IPM, 46.83 % SXT, 30% CIP, 14.59% GEN.[36]

-BLSE communautaire apparus en 1990, CTX-M1 en Allemagne puis extension : Japon Amérique Sud, Espagne, Europe Est. Au niveau mondial en 1998. [37]

-*E.coli* BLSE : multiplication de la prévalence par 10 entre 2006 et 2011 chez des personnes en bonne santé à Paris : 0.6 à 6.1%. [38]

-En 2015 détection dans les matières fécales d'*E.coli* résistants à la colistine. Le dépistage du gène *mcr-1* au laboratoire national de microbiologie de l'agence de la santé publique du Canada a débuté en décembre 2015 et, à ce jour, le gène a été détecté dans trois isolats d'*E.coli* : un isolat (datant de 2011) provenait d'un cas humain en Ontario qui avait précédemment vécu en Égypte, et cet isolat était également résistant aux carbapénèmes (producteur de carbapénémase de type OXA-48). Les deux autres isolats (datant de 2010) ont été obtenus à partir d'échantillons de viande de bœuf hachée vendue au détail prélevés en Ontario, et ces isolats étaient également multirésistants. [39]

6.2 *Enterococcus spp*

-Pourcentage de résistance(R+I) d'*Enterococcus spp* aux antibiotiques en Algérie en 2015 selon AARN est de 7.94% AMP, 79.89% ERY, 80.99% TCY ,2.77% VAN ,40% LVX et RIF , 24.32 % CHL.

-La résistance en milieu communautaire chez les entérocoques est fréquente chez *Enterococcus faecium*.

- L'Apparition des premières souches entérocoques résistants à la VAN en : 1986 (UK) – 1987 (France) – 1989 (USA) ; Puis diffusion mondiale: Corée (20% des *E. faecium*), Japon,

Brésil, Australie, Inde. Fréquence d'*E.faecium* résistant à la vancomycine (VREF) en augmentation en Europe depuis 2002, portage fécal extrahospitalier+++ . [40]

6.3 *Staphylococcus aureus*

-La résistance de SARM en communautaire est apparue en 1900 alors que la pandémie à partir de 2000 a été décrites à travers le monde, d'abord en Australie, puis aux États-Unis, et en France et en Europe. La mortalité associée aux infections invasives à SARM est d'environ 20 % faisant des infections à SARM une des causes principales de mortalité d'origine bactérienne. [19]

- La diminution de la résistance à la méthicilline apparaît moins importante en France que dans les autres pays : malgré une nouvelle diminution de la proportion de SARM pour atteindre 17% en 2013, la France reste en 18ème position, position qu'elle avait déjà en 2005 alors que la proportion de SARM était de 27%. [41]

-En Algérie, au 2015 la résistance de *S.aureus* est élevé : 90% PEN ,34% KAN TCY une sensibilité à la VAN, PRI et très faible résistance pour les autres antibiotiques.[36]

5.4 *Heamophilus influenzae*

-Principales espèces bactériennes responsable d'infections communautaires

-La diminution de sensibilité par modification de la cible des β -lactamines est moins fréquente atteignant 8 à 10 % des souches mais peut devenir préoccupante, touchant à la fois les aminopénicillines et à des degrés divers les céphalosporines orales et injectables

-*H.influenzae* est une espèce sensible à de nombreuses familles d'antibiotiques. [19]

5.5 *Streptococcus pneumoniae*

-Responsable d'infections souvent sévères : pneumopathies communautaires.

-Il est resté très sensible aux antibiotiques jusque dans les années 1960, mais en 1979, la première souche clinique de sensibilité diminuée à la pénicilline G a été décrite en France. Depuis, une augmentation continue des PSDP a été observée en France. [19]

-En Algérie, au 2014 la résistance à ERY est 53% , 49.5% à CLI, 38% SXT, 33% TCY, très faible résistance au FOS et CHL ,sensibilité au PRI et VAN. [42]

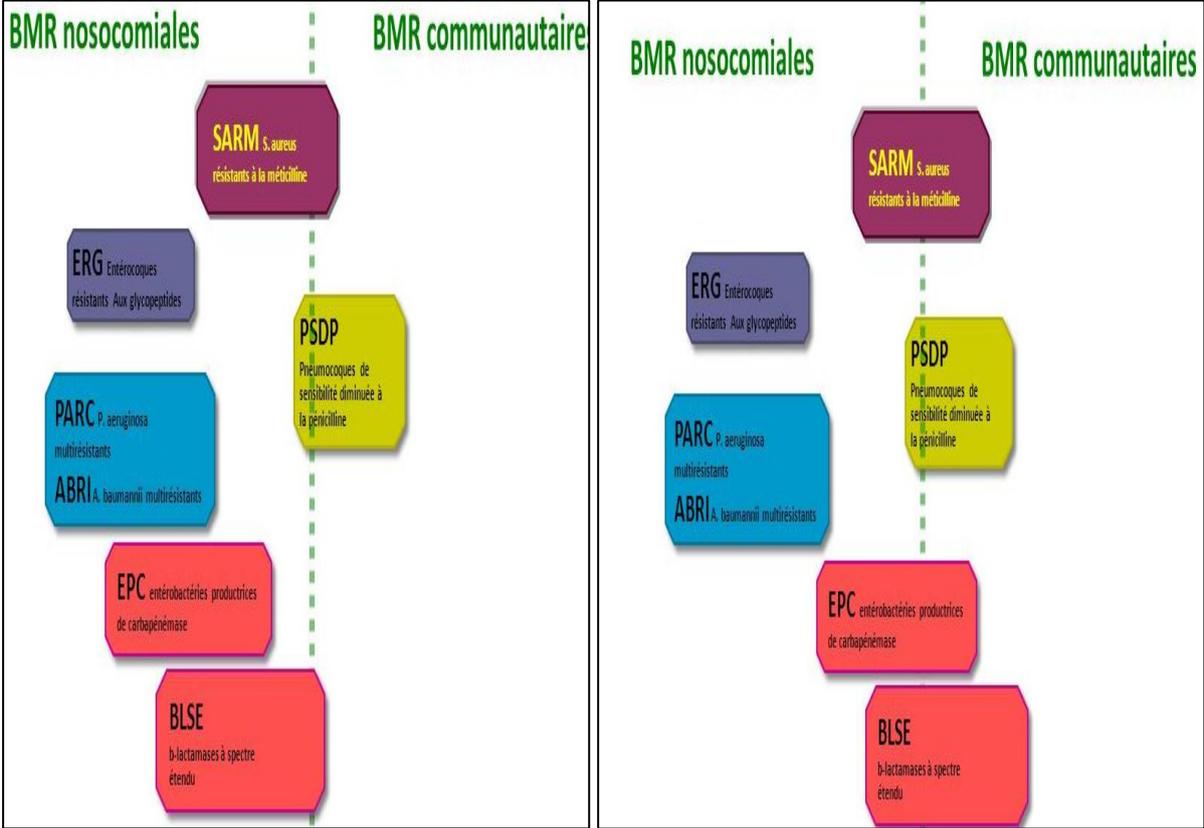


Figure 14 : Emergence de BMR communautaires Hier et aujourd’hui. [41]

CHAPITRE III

**Lutte contre l'émergence et la diffusion de la
résistance aux antibactériens**

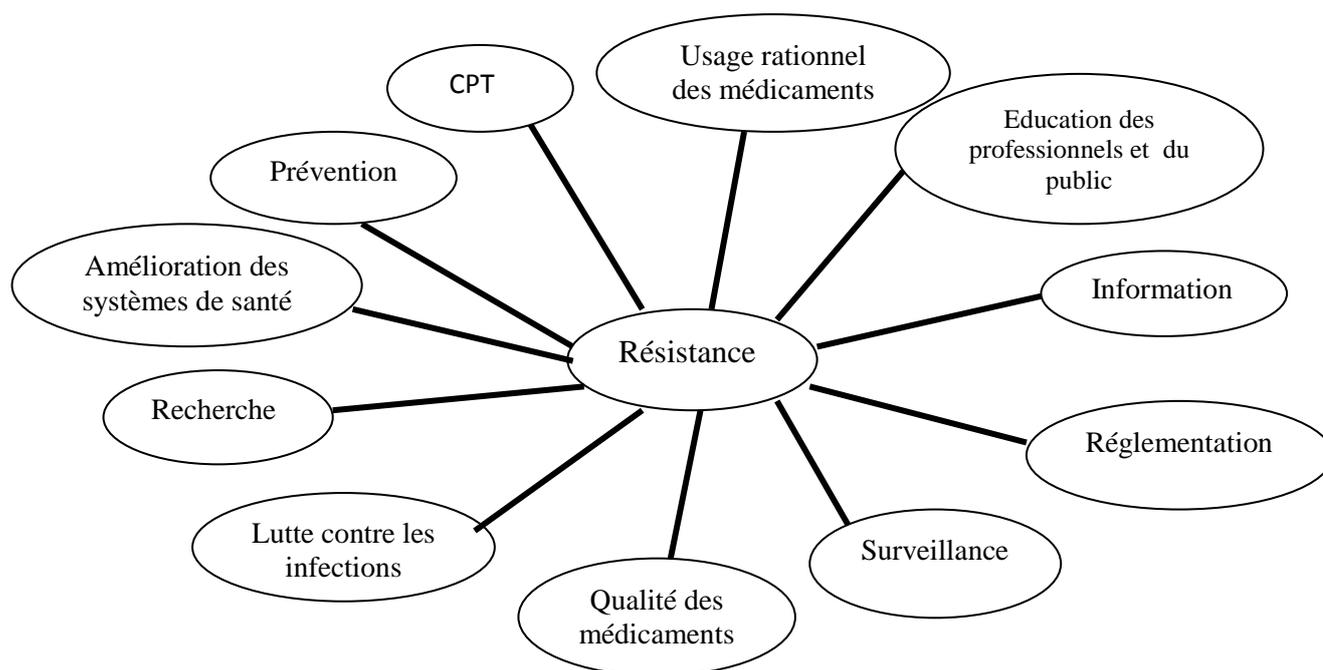


Figure 15 : Stratégie mondiale de lutte contre la résistance aux antimicrobiens établie par l'organisation mondiale de santé (OMS). [42]

1. Organisations de la lutte contre l'émergence et la diffusion de la résistance aux antibactériens

1.1 Système mondial de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (GLASS)

Objectif:

Permettre la collecte, l'analyse et la transmission aux pays de données validées, comparables et normalisées sur la résistance aux antimicrobiens, susceptibles de guider le processus décisionnaire, d'orienter les actions locales, nationales et régionales et d'établir la base factuelle sur laquelle fonder les activités d'intervention et de sensibilisation. [44]

1.2 AARN : Algerian Antimicrobial Résistance Network, répertorié sur le site de l'OMS

Objectif

- Promouvoir l'interconnexion des laboratoires nationaux dans la surveillance de la résistance aux antimicrobiens
- Assurer le contrôle de qualité externe et interne du processus de surveillance de la résistance aux antimicrobiens.
- Renforcer le système national de veille épidémiologique et d'alerte rapide.

-Recueillir les données épidémiologiques et en assurer l'exploitation, l'analyse et la diffusion des résultats.

-Améliorer la formation du personnel du réseau des laboratoires nationaux. [45]

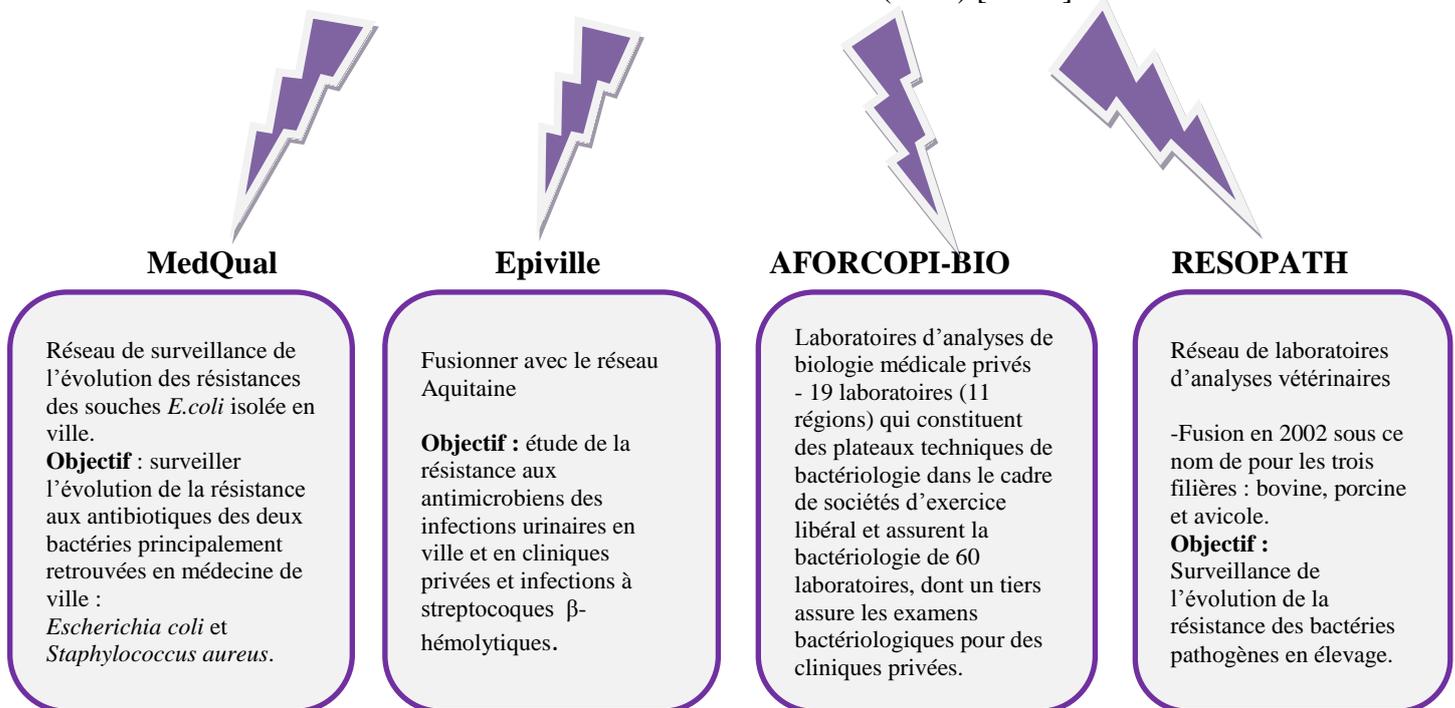
1.3 Exemple d'autres réseaux internationaux de surveillance et de lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques

❖ ONERBA (France)

Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotique.

Objectif : Surveiller l'évolution de la résistance bactérienne (hôpital, ville, animal) aux antibiotiques en France = unique objet de l'ONERBA.

Membre : 16 réseaux +2 centres nationaux de référence (CNR) [46-47]



❖ Système Canadien de surveillance de résistance aux antimicrobien

Objectif : lutter contre l'émergence des résistances aux antimicrobien.

Le système fournit un tableau exhaustif de la RAM et de l'UAM aux Canada en présentant des données provenant de 9 systèmes de surveillance et service de référence en laboratoire de l'ASPC qui suivent les organismes prioritaires définis. Le premier rapport du SCSRA publié en 2015 présentée les données sur la RAM et UAM aux Canada jusqu'en 2013. [48]

❖ Réseau européen de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (EARSNet)

❖ Réseau de surveillance de la résistance aux antimicrobiens en Asie centrale et en Europe orientale (CAESAR)

❖ **Réseau de surveillance de la résistance aux antimicrobiens en Amérique latine (ReLAVRA)**

❖ **LART : Réseau Tunisien de Surveillance de la Résistance bactérienne aux Antibiotiques**

❖ **IMP : institut pasteur au Maroc**

- Les pays en développement, qui rencontrent des défis particuliers, ne disposent généralement pas d'un tissu de laboratoires suffisant pour mettre en œuvre cette surveillance. Pourtant les données épidémiologiques font état d'une évolution inquiétante de la résistance aux antimicrobiens, comme en Afrique et en Asie.

- Cette surveillance en milieu communautaire n'existe dans notre pays, qu'à travers un nombre faible d'études ponctuelles. Il est donc indispensable de créer des réseaux de LABM de ville dont les objectifs seront de préciser l'épidémiologie des bactéries responsables d'infections en pratique de ville, ainsi que leurs profils de résistance aux antibiotiques. Ces objectifs ne seront atteints que par leur participation à des enquêtes prospectives multicentriques, en collaboration avec des laboratoires de microbiologie nationaux experts. [49]

2. Surveillance de la résistance bactérienne à l'antibiotique et application du concept de bactéries sentinelles en milieu communautaire

Les indicateurs microbiens ont été utilisés pendant plus de 100 ans {depuis la fin des années 1800} pour détecter et quantifier la contamination fécale dans les échantillons d'eau, d'aliments et dans l'environnement. [50]

a-Définition des bactéries sentinelles

Des bactéries sentinelles ou dites bactéries indicatrices sont des substituts utilisés pour mesurer la présence potentielle de matières fécales et les agents pathogènes fécalisés associés. Elles sont utilisées pour indiquer la présence d'un risque pour la santé. Une bactérie indicatrice ne pose pas toujours un risque pour la santé, mais elle est souvent accompagnée d'autres micro-organismes qui, eux, sont dangereux. Ex : salmonelle, shigella, noravirus, entérovirus, cryptosporidie et giardia. On retrouve ces pathogènes dans les sources de pollution par matières fécales humaines et non humaines. Des bactéries indicatrices comme les coliformes fécaux et les entérocoques font partie de la flore intestinale des animaux à sang chaud. Ces microorganismes sont omniprésents dans tous les écosystèmes terrestres et aquatiques. [52-56]

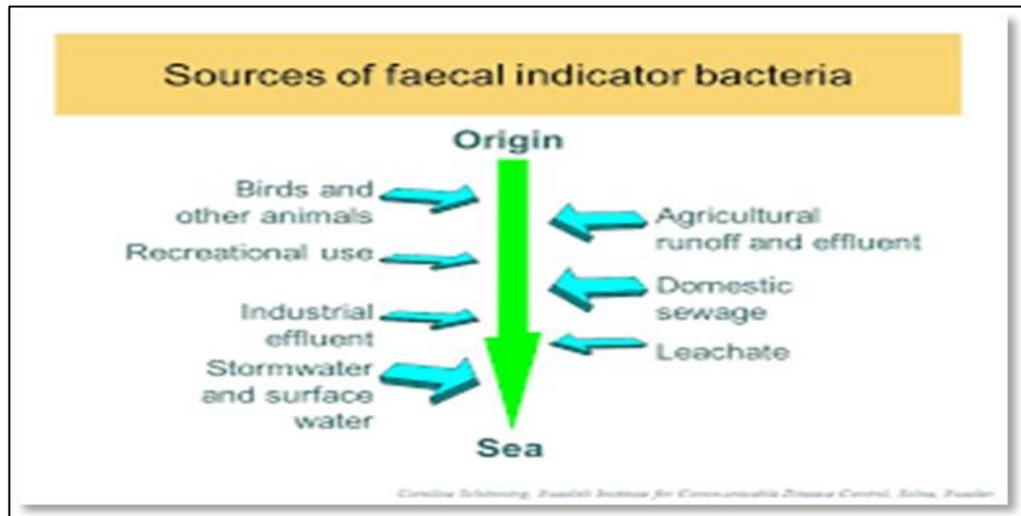


Figure 16 : Sources des bactéries indicatrices fécales. [53]

b- Les caractéristiques des bactéries sentinelles

Idéalement, les indicateurs devraient avoir des modèles similaires de croissance, de décès et de susceptibilité aux désinfectants et aux substances toxiques comme agents pathogènes. Ils devraient avoir ces caractéristiques pour avoir un indicateur idéal [54] :

- L'indicateur devrait de préférence contenir une espèce unique ou quelques espèces présentant des caractéristiques biochimiques communes et identifiables. [55]
- L'indicateur devrait être d'origine entérique, c'est-à-dire qu'il devrait partager le même habitat que les agents pathogènes entériques. [55]
- L'indicateur doit être non pathogène de sorte que sa manipulation au laboratoire ne nécessite pas de précautions de sécurité. [55]
- L'indicateur devrait être présent dans la matière fécale dans des nombres beaucoup plus élevés que les pathogènes entériques afin qu'ils puissent être facilement détectés. [55]
- L'indicateur doit être détecté et identifié dans un court laps de temps [55], et devrait être relativement peu coûteux à utiliser. [54]
- L'indicateur devrait avoir un taux de croissance et de survie dans un aliment comme celui du pathogène entérique, devrait avoir des modèles de survie similaires à ceux pathogènes à l'extérieur de l'hôte; ne devrait pas pouvoir se développer et proliférer dans l'environnement. [55-56]
- L'indicateur devrait de préférence être présent lorsque les agents pathogènes sont présents dans les aliments.

Il est évident qu'aucun groupe ou espèce bactérienne unique ne pourra satisfaire à tous les critères d'un indicateur idéal. Plusieurs groupes ou espèces bactériennes satisfont un bon nombre de ces critères. [55]

c-Domains d'usage des bactéries sentinelles et application à la surveillance de la résistance aux antibiotiques

c.1 Domaines d'usage des bactéries sentinelles

Pour faire un suivi efficace et moins coûteux de la contamination fécale, on utilise la détection des bactéries indicatrices de contamination fécale, elles sont des bactéries qui vivent en relation commensale dans l'intestin des humains et des animaux et qui sont relâchées de façon constante dans les fèces. [57]

-Le suivi de la qualité microbiologique de l'eau potable dépend en grande partie de l'examen des bactéries indicatrices telles que les coliformes, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ; Dont *E.coli* est un indicateur le plus spécifique de la pollution fécale que les autres coliformes fécaux. Elle constitue un bon indicateur de la pression de sélection antimicrobien. [58]

-Les entérocoques sont des indicateurs de contamination environnementale des matières fécales : ont été adoptés comme indicateurs de la pollution fécale humaine dans l'eau. [58]

Plus récemment, leurs densités sur les mains humaines ont été utilisées comme indicateurs de l'hygiène des mains. [58]

c.2 Application à la surveillance de la résistance aux antibiotiques

Dans notre étude, on s'intéresse à *Escherichia coli* et *Enterococcus* spp qui sont des bactéries commensales indicatrices. [59]

c.2.1 *Escherichia coli*

Escherichia Coli est une bactérie gram-négative naturellement présente dans l'intestin de l'homme et de la plupart des mammifères.

C'est un indicateur de résistance :

Utilisé comme bactérie indicatrice des Gram négatif [59]:

Il est nécessaire de diminuer le recours aux antimicrobiens pour contrôler la résistance aux antibiotiques. De la même manière, le fait de réduire le nombre de bactéries résistantes dans le tube digestif de l'animal peut également contribuer au contrôle de ce type de résistance. En effet, cela permet de diminuer la charge de bactéries résistantes dans l'environnement et ainsi, de réduire la transmission de gènes de résistance. Il est particulièrement important de

diminuer la résistance aux antibiotiques chez les espèces bactériennes fréquemment retrouvées chez l'homme et l'animal. Par exemple, l'homme ingère chaque jour la bactérie *E. coli* présente dans les aliments. [51]

En raison de l'omniprésence des souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques dans les isolats d'origine humaine et animale, cette bactérie constitue un indicateur du niveau de résistance potentielle existant chez l'homme et l'animal.

En ville, *Escherichia coli* est responsable de la plus fréquente des infections bactériennes.

Les souches de *Shigella* sont dérivées d'*E. coli* et la pathogénicité chez *Shigella* nécessite l'acquisition d'un plasmide de virulence et de deux régions codées par chromosomie ainsi que l'absence de deux gènes détectés dans *E. coli*. La suppression d'*ompT* est affichée avec une ligne pointillée car on ne sait pas si tous les ancêtres *E. coli* de *Shigella* hébergent ce gène à base de phage. [60,61]

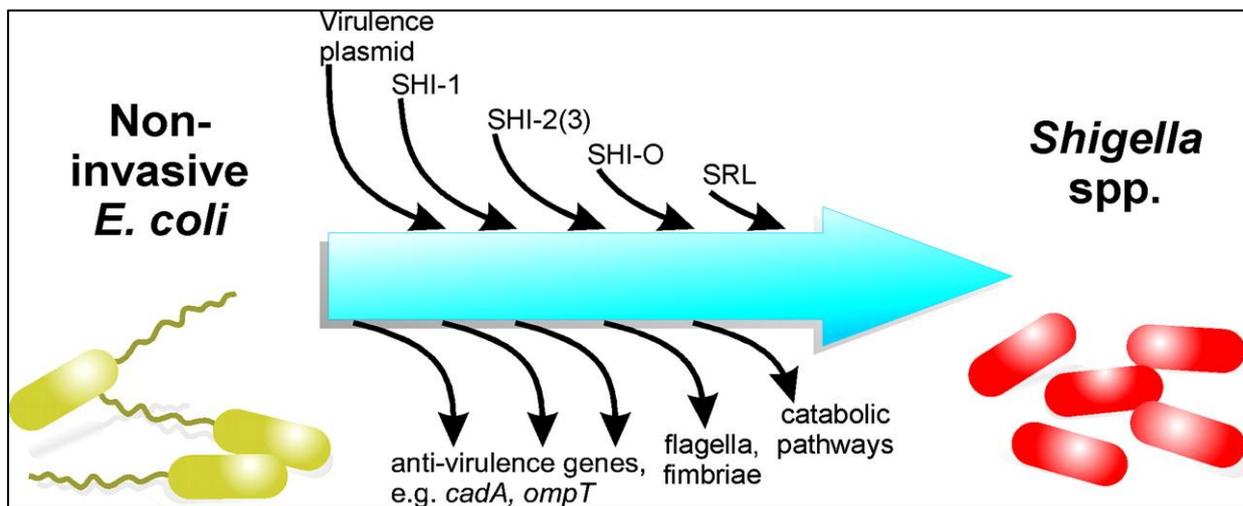


Figure 17 : Transfert horizontale des gènes entre *E. coli* et *Shigella*. [61]

Au niveau génétique, *E. coli* représente le genre bactérien le plus étroitement rapproché de *Salmonella*. De plus, de 60 à 70% des gènes transférés horizontalement auraient été reçus suite à la divergence entre *Salmonella* et *E. coli*, mais avant la division de *S. enterica* en différentes sous espèces (exposant le concept que de 60 à 70% des transferts horizontaux chez *S. enterica* seraient partagés à travers la majorité de ses sous-espèces). Ce gain de matériel génétique aurait contribué à l'évolution de *Salmonella* vers une bactérie capable d'infecter activement son hôte, de s'y adapter et de le rendre malade.

Les plasmides CMY-2 d'*E. coli* ont démontrés deux modèles de plasmides différents qui présentaient de fortes similitudes avec les plasmides de *Salmonella* CMY-2. [63]

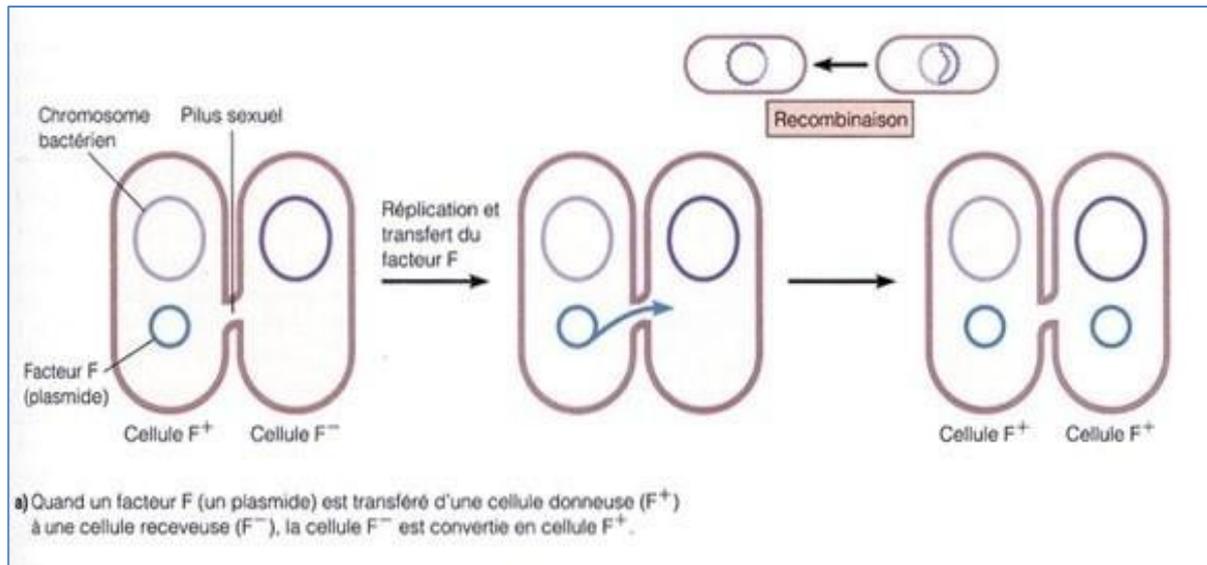


Figure 18 : Transfert horizontale des gènes entre *E. coli* et *Salmonella*. [63]

c.2.2 *Enterococcus spp*

Les entérocoques sont des bactéries Gram-positives qui colonisent les voies gastro-intestinales chez les humains et les animaux.

Enterococcus faecalis et *Enterococcus faecium* sont les espèces les plus prévalentes dans les cultures provenant de cas humains; elles représentent plus de 90 % des isolats cliniques. [58]

C'est un indicateur de résistance :

La résistance aux antibiotiques a été acquise et a été diffusée dans les entérocoques, par transfert horizontal d'éléments génétiques mobiles. Cette transmission a été médiatisée principalement par des plasmides conjugués du groupe 18 d'incompatibilité de la gamme d'hôtes et de la largeur de la phéromone. Le séquençage du génome révèle l'étendue de la diversité de ces éléments et d'autres éléments mobiles dans les entérocoques, ainsi que l'étendue de la recombinaison et le réarrangement résultant de nouveaux phénotypes. En outre, les plasmides de l'incompatibilité du groupe 18 ont récemment joué un rôle important dans la médiation du transfert de la résistance à la vancomycine des entérocoques aux souches résistantes à la méthicilline de *S. aureus*. [63]

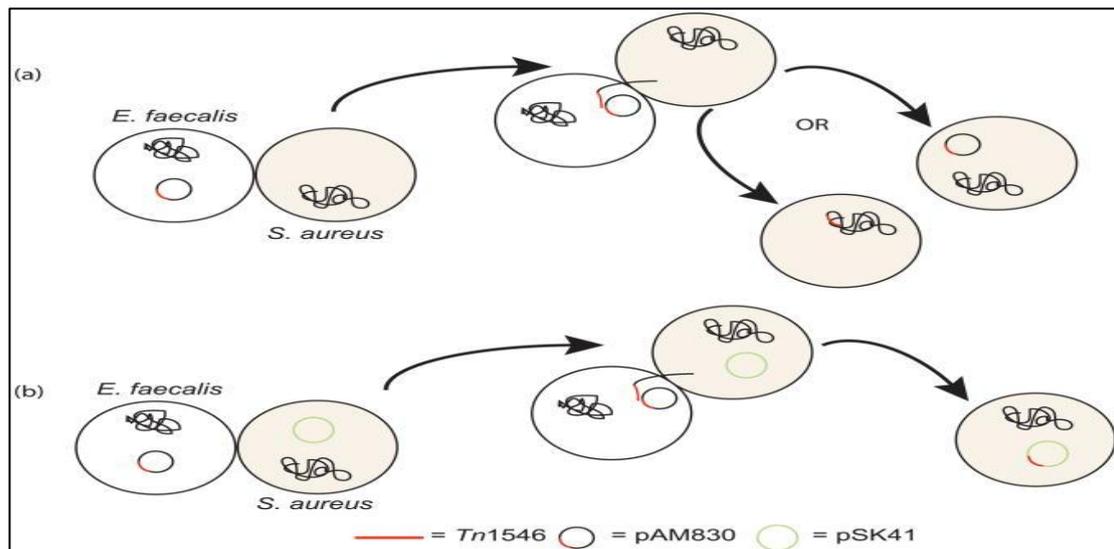


Figure 19 : Transfert horizontal d'*E. faecalis* des gènes à *S. aureus*.

La mobilisation de la résistance aux antibiotiques d'*E. faecalis* {donneurs} à *Streptococcus gordonii* Challis {récipients} en réponse à la phéromone gordonii-cAM373. (A) Les cellules de *S. gordonii* Challis produisent un signal, le gordonii-cAM373, qui est détecté par des cellules *E. faecalis* portant pAM373 via la protéine membranaire codée par un plasmide, TraC. (B) Les fonctions conjugales sont induites sur pAM373 par la présence de gordonii-cAM373, conduisant à la formation de pores conjugués et à la mobilisation d'un plasmide non-conjugatif de résistance à l'érythromycine. [63]

Le résultat de cette interaction est *S. Gordonii* Challis résistant à l'érythromycine. En l'absence de pAM373, aucun transfert de résistance à l'érythromycine d'*E. faecalis* à *S. gordonii* Challis ne se produit. [63]

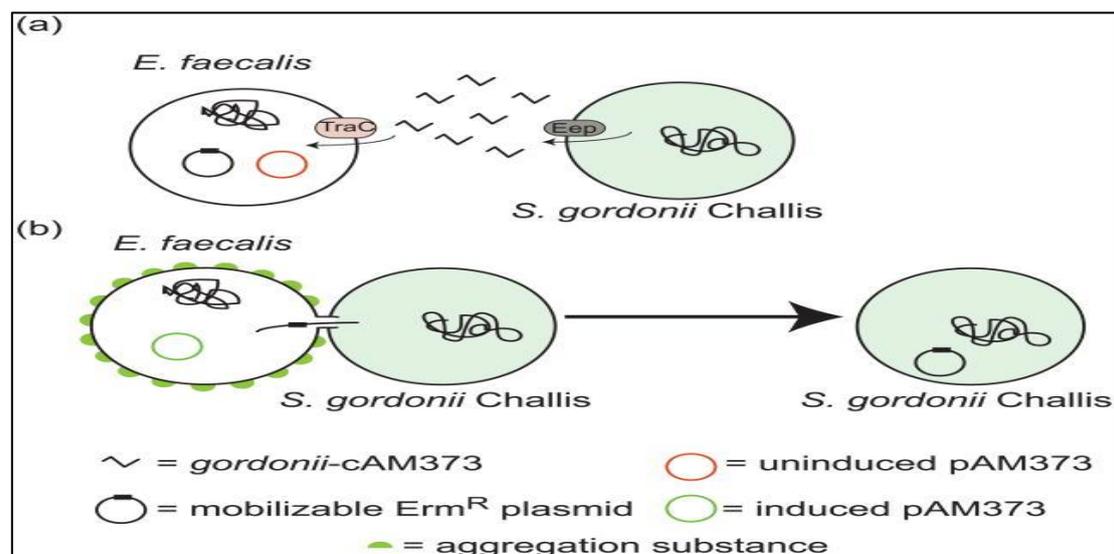


Figure 20 : Transfert génétique horizontal d'*E. faecalis* à *S. gordonii* Challis.

CHAPITRE IV
LES STRATEGIES DE PREVENTION

1. Promouvoir l'innovation et la recherche sur les nouveaux médicaments et les nouvelles technologies

✓ Les phages, des virus tueurs de bactéries

Un phage ne détruit qu'une seule souche bactérienne. Cela à l'avantage de préserver le microbiote naturel du patient mais nécessite par ailleurs un diagnostic précis de l'infection, ce qui n'est pas le cas pour les antibiotiques.

Un essai clinique visant à évaluer l'efficacité de la phagothérapie a été lancé en septembre 2015 dans 11 centres de grands brûlés en France, en Suisse et en Belgique. [64]

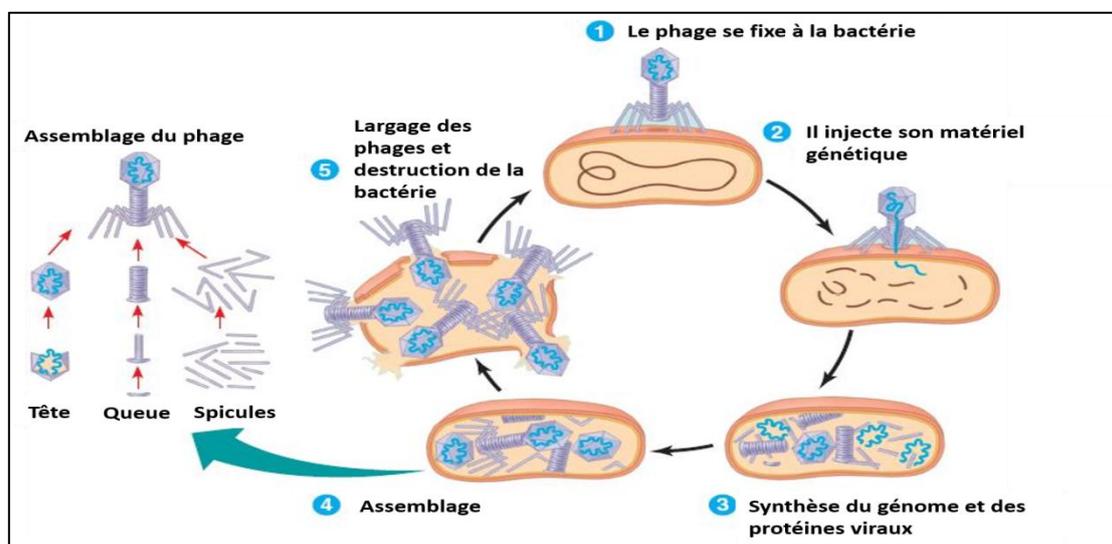


Figure 21 : Les différentes étapes de la phagothérapie. [65]

✓ Une barrière chimique naturelle

Les plantes, les insectes et les vertébrés produisent tous des molécules pour se protéger d'infections par les bactéries. On appelle ces molécules des «peptides antimicrobiens», qui sont de bons candidats potentiels à la lutte contre la résistance aux antibiotiques. Elles peuvent rompre les membranes des microbes ou séquestrer leur nourriture afin de les affamer, elles ont la particularité de tuer préférentiellement les cellules microbiennes pathogènes, ce qui a l'avantage de ne pas affecter la flore intestinale. [64]

✓ Les bactéries cannibales

En 2011, une étude menée à l'Université de Nottingham (Royaume-Uni) a montré qu'une bactérie prédatrice, *Bdellovibrio*, pouvait dévorer des bactéries nuisibles à l'intérieur d'un animal vivant (en l'occurrence des poulets), et cela sans nuire à leur croissance ni à leur santé.

Plus récemment, en 2013, des chercheurs ont montré que deux espèces de bactéries prédatrices pouvaient être utilisées pour traiter des infections oculaires bactériennes. Ce cannibalisme, connu depuis les années 1960, fait l'objet d'un regain d'intérêt avec l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques. [64]

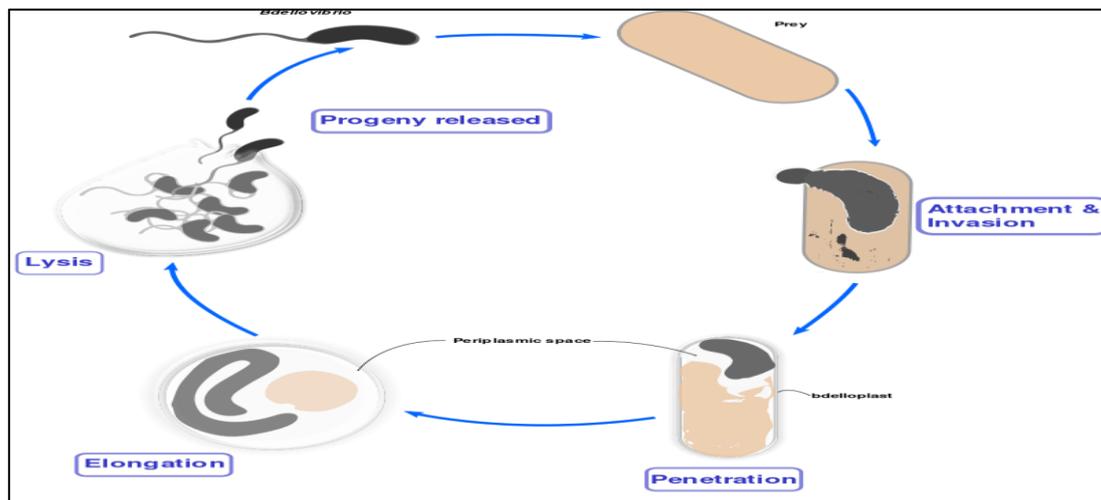


Figure 22 : Cycle de vie de *Bdellovibrio*. (*Bdellovibrio* s'attache à une bactérie gram-négative après contact et pénètre dans le périplasme de sa proie. Une fois à l'intérieur, elle s'allonge et relâche sa progéniture après 4 heures). [66]

✓ L'aspergillomarasmine

La découverte d'une substance sécrétée par le champignon *Aspergillus versicolor*, l'aspergillomarasmine, qui permet de rendre inopérantes certaines de ces enzymes.

En l'associant à un carbapénème, les chercheurs ont réussi à rendre à l'antibiotique son pouvoir guérisseur. [67]

✓ Un cheval de Troie moléculaire

«Crispr-Cas9», c'est le nom de la technologie mise au point par les équipes internationales d'Emmanuelle Charpentier et de Jennifer Doudna, qui permet de remodeler à loisir de l'ADN. Inspiré du système de défense de certaines bactéries contre les attaques de virus, il permet de supprimer, modifier ou remplacer un ou plusieurs gènes directement dans une cellule. [64]

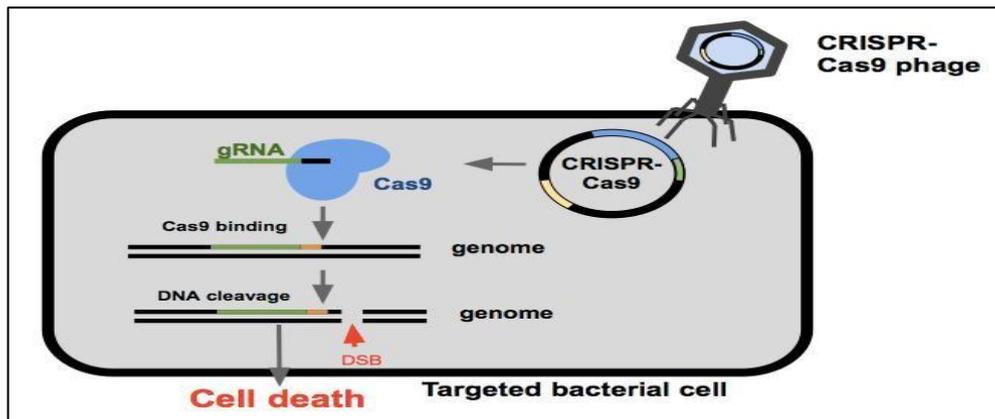


Figure 23: Les différentes étapes d'un cheval de Troie moléculaire. [68]

✓ Les nanoparticules

Certaines applications médicales des nanotechnologies c'est-à-dire des technologies grâce auxquelles, on peut fabriquer des particules extrêmement petites (nanoparticules), qui pourront délivrer avec précision des médicaments directement dans les tissus ou les cellules que les médicaments classiques ne peuvent pas facilement atteindre.

✓ Anticorps

Se lie à des bactéries où leurs produits, restreignant leur capacité à causer une maladie. [69]

✓ Probiotiques

Prévenir la colonisation de l'intestin par des bactéries pathogènes. [69]

✓ Lysines

Enzymes qui agissent directement sur les bactéries. [69]

2. Réduire l'utilisation abusive des antibiotiques en agriculture et en médecine vétérinaire et humaine

3. Rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre la résistance bactérienne

Le pharmacien, en tant que spécialiste du médicament, doit s'assurer que les antibiotiques sont utilisés de façon appropriée. Il joue indiscutablement un rôle dans le juste usage des antibiotiques. Même s'il est compliqué, dans l'état actuel des choses. [12]

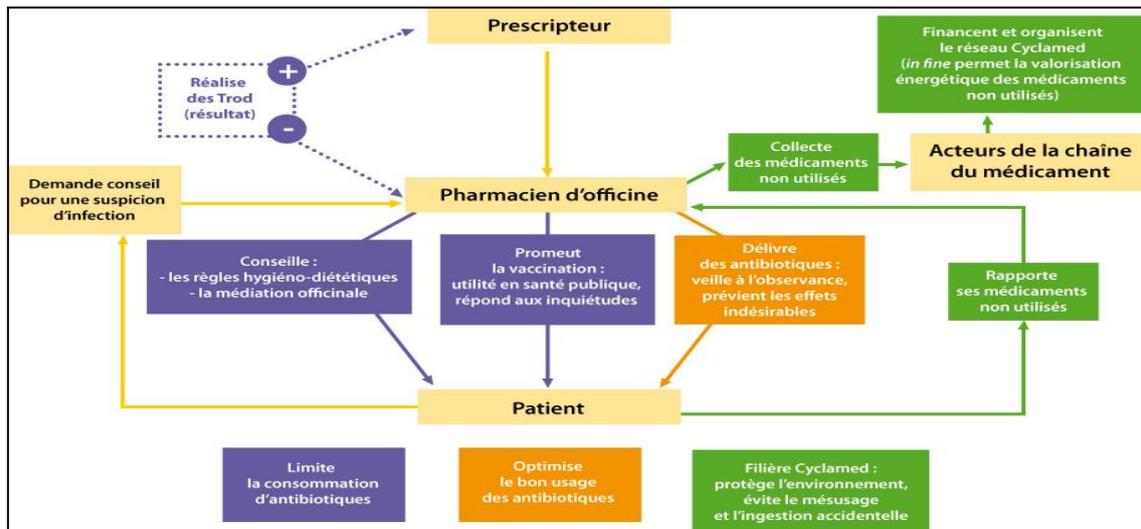


Figure 24 : Rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre le développement de l'antibiorésistance.[12]

1) Juste usage des antibiotiques

*Juger du caractère opportun de la mise en place de l'antibiothérapie / pertinence du choix de la molécule par rapport aux recommandations (ex angine / Pénicilline G).

*Vérifie les doses et durées de traitement, ainsi que les interactions avec d'autres prises médicamenteuses éventuelles.

*Sensibilisation quant à l'observance du traitement.

2) Prévention des infections et maîtrise des transmissions croisées

Le pharmacien, en tant qu'acteur de santé de proximité, se doit de transmettre auprès de la population des messages de santé publique. Ainsi son rôle dans la prévention des infections et des transmissions croisées est indéniable.

Le pharmacien se doit de rappeler à tous le calendrier vaccinal. Il est également indispensable qu'il rappelle les règles d'hygiène, et notamment des mains, pour éviter les transmissions en cas d'infection.

3) Usage de la médication officinale

4) Surveillance quantitative et qualitative de l'usage des antibiotiques

5) Communication, éducation et formation

6) Collaboration multidisciplinaire et coopération internationale [12]

4. Conseils en antibiothérapie

Éviter une prescription inutile d'antibiotique, chaque prescription d'antibiotique doit être réfléchie, en mettant en balance :

- Les effets bénéfiques à court terme pour le patient, objectif prioritaire s'il est effectivement atteint d'une infection bactérienne.
- Les effets néfastes pour le patient sur sa flore commensale (iatrogénie).
- Les effets néfastes pour l'écologie bactérienne par la sélection de bactéries multirésistantes.



Figure 25 : Prévention contre la propagation de la résistance aux antimicrobiens dans les milieux de soins de santé. [70]

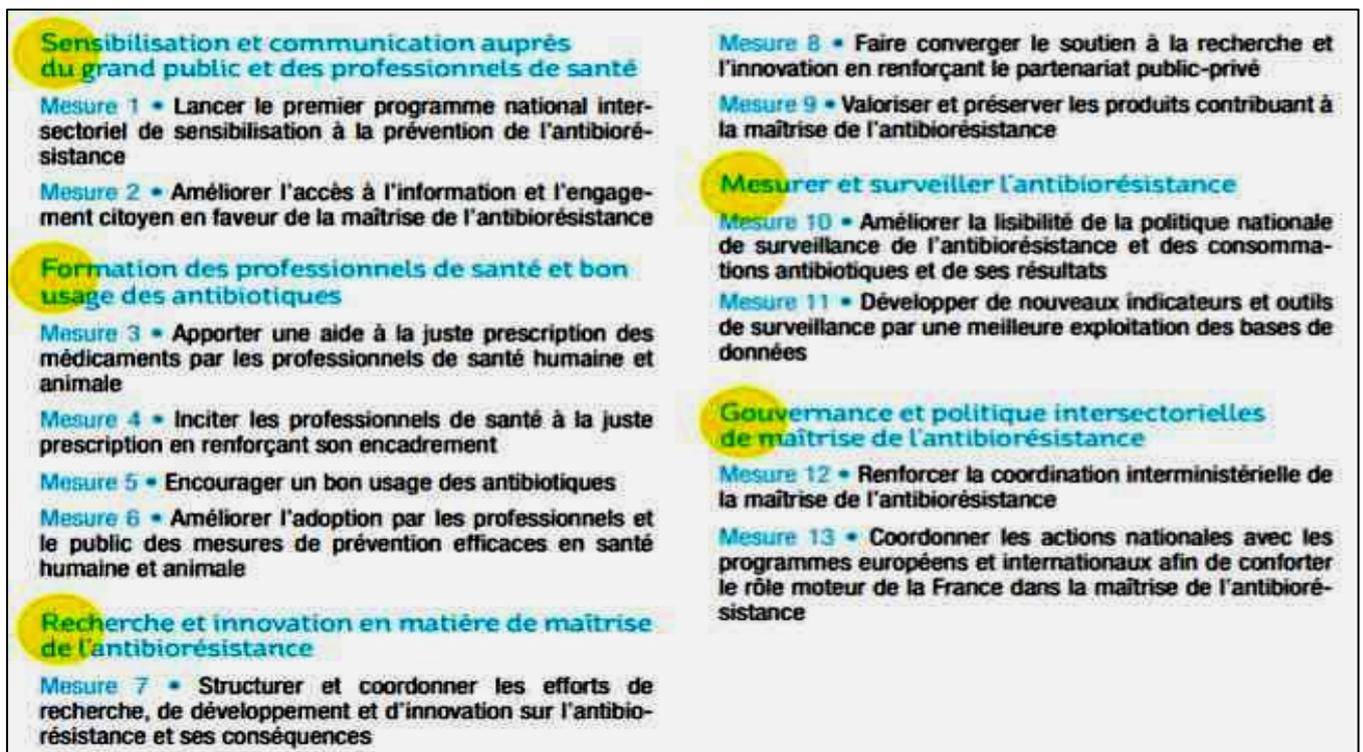


Figure 26 : 13 mesures pour maîtriser l'antibiorésistance. [71]

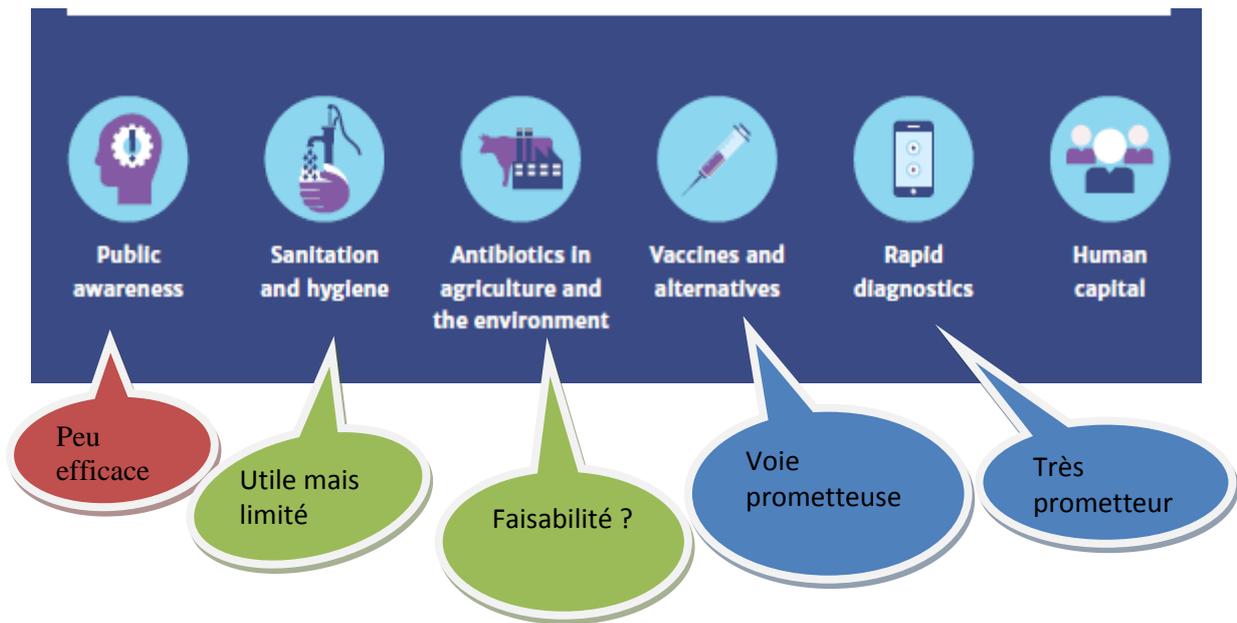
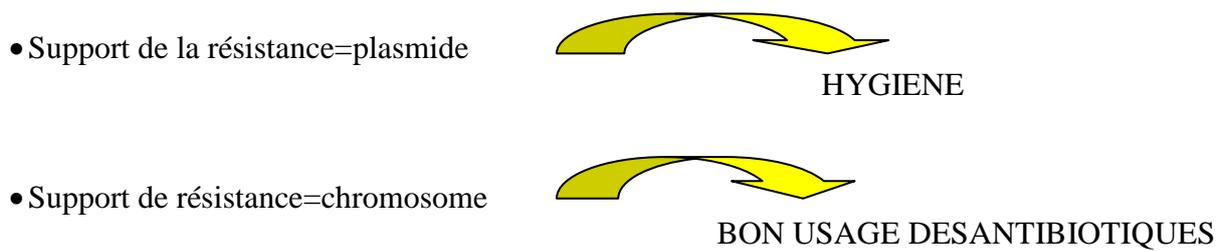
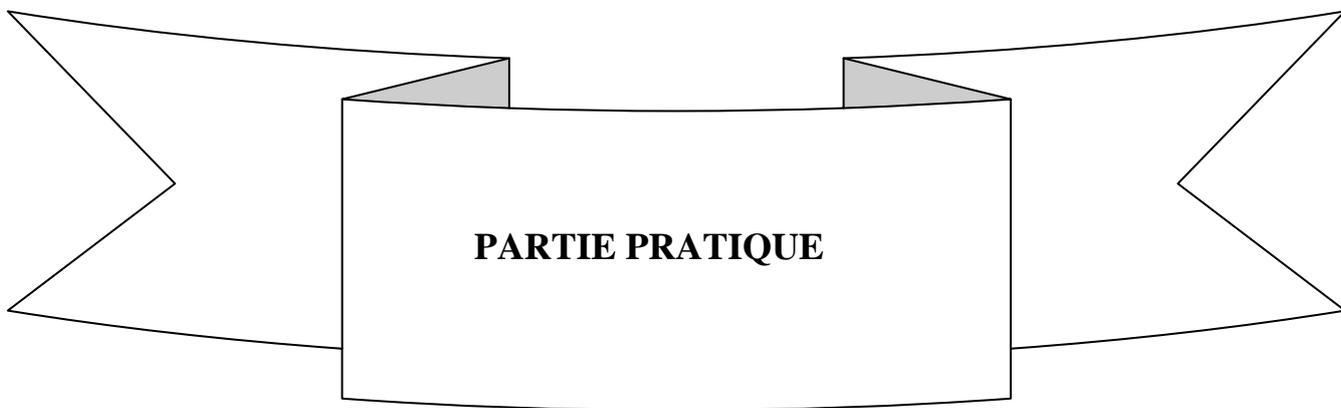


Figure 27 : Réduction de la demande d'antimicrobiens et réduction de l'usage non désiré. [69]



La difficulté c'est que la résistance est un phénomène assez peu visible. Ebola on voit tout de suit, la résistance bactérienne, ça ne se voit pas, il reste beaucoup de travail.

LES BACTERIES N'ONT PAS FINI D'EVOLUER !!



I- MATERIELS ET METHODES

Rappels des Objectifs

Objectif principal

- Dépister les principaux profils de résistance des bactéries indicatrices {*Escherichia coli* et *Enterococcus* spp} aux différentes familles d'antibiotiques utilisés en médecine humaines et ce, en milieu communautaire.

Les objectifs secondaires

- Déterminer les mécanismes de résistance correspondant aux principaux profils dépistés.
- Développer, valider et établir des fiches techniques permettant de réaliser des études à grande échelle en matière de dépistage des bactéries indicatrices résistantes.

Matériels et méthodes

C'est une étude descriptive réalisée sur une période de 4 mois allant du 08 janvier au 30 avril. Elle a porté sur 141 patients *a priori* non hospitalisés.

-Les critères d'inclusion :

Le seul critère d'inclusion est que le prélèvement de selles/urines soit issu d'un patient *a priori* non hospitalisé.

-Les critères de non inclusion :

*patients hospitalisés

-Les critères d'exclusion :

*Les patients ayant eu un enrichissement sélectif négatif

Remarque : L'antibiogramme des souches *Escherichia coli* et *Enterococcus* spp et tous les tests complémentaires cités dans la partie pratique ont été faits au laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine Tizi-Ouzou.

1) Matériels

✓ Les échantillons :

- Il s'agit de spécimen de selles et d'urines provenant des laboratoires de microbiologie et de parasitologie du CHU Nedir Mohammed.
- Nous avons totalisés 141 échantillons (82 selles et 59 urines) provenant de patients *a priori* non hospitalisés (milieu communautaire).

- Les échantillons ont été collectés sous forme d'aliquotes en mettant une noisette de selles ou quelques millilitres du culot de centrifugation d'urines dans du bouillon nutritif, ceci a pour objectif :

- ✓ Limiter l'espace occupé par les pots de selles et d'urines.

- ✓ Eviter l'accumulation de déchets à risque infectieux en l'absence de dispositif adéquat d'élimination.

- ✓ Servir de « pré-enrichissement » pour favoriser la multiplication des bactéries indicatrices.

- Les échantillons ont été collectés à la fin de leur utilisation par les services sus cités.

- ✓ **Fiche de renseignements**

Une fiche de renseignement détaillée a été élaborée afin de recueillir toute information pertinente relative à la résistance bactérienne aux antibiotiques en milieu communautaire, cette fiche c'est inspirée des données théoriques collectés. (voir annexe N°4)

- ✓ **Transport et conservation**

Les échantillons ont été transportés à température ambiante au laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine de l'UMMTO.

En cas d'ensemencement différé, les échantillons ont été incubés à 37° pendant 24h ou conservés à +4° jusqu'à leurs traitement.

2) Méthodes

2.1 Traitement des échantillons

Le traitement des échantillons c'est fait en 4 temps.

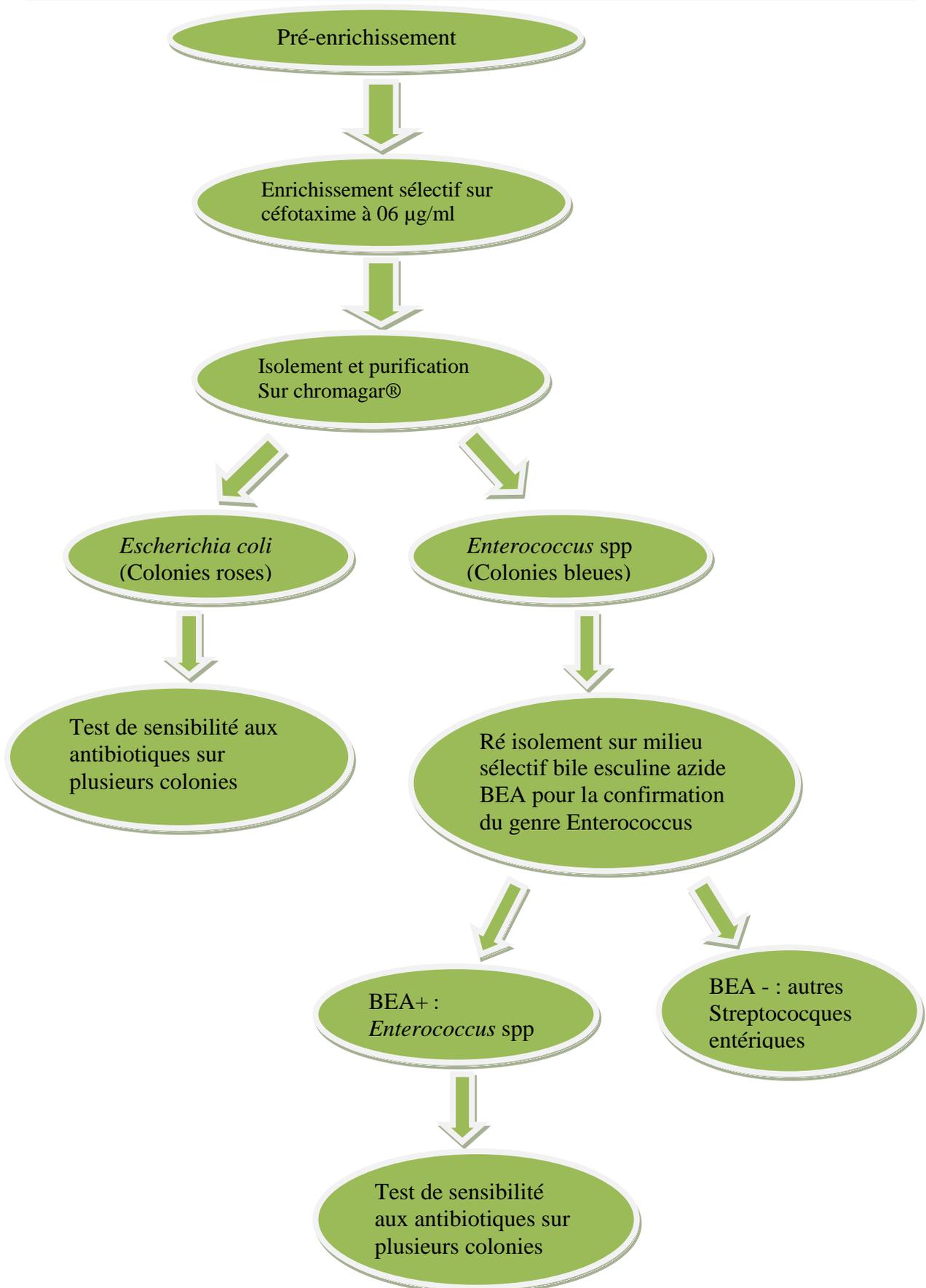


Figure 28 : Algorithme de traitement des échantillons

2.1.1 Pré-enrichissement

Objectif

Phase non sélective permettant :

- une revivification des bactéries présentes dans l'échantillon ;
- une augmentation non spécifique du nombre de bactéries présentes dans l'aliquote de prélèvement analysé.

Mode opératoire

- *le bouillon nutritif estensemencé d'une noisette de selles/culot de centrifugation des urines
- * l'incubation dure une vingtaine d'heure à 35°C-37°C ou au besoin à +4° suivi d'une incubation à 35°C-37°C pendant 24h.

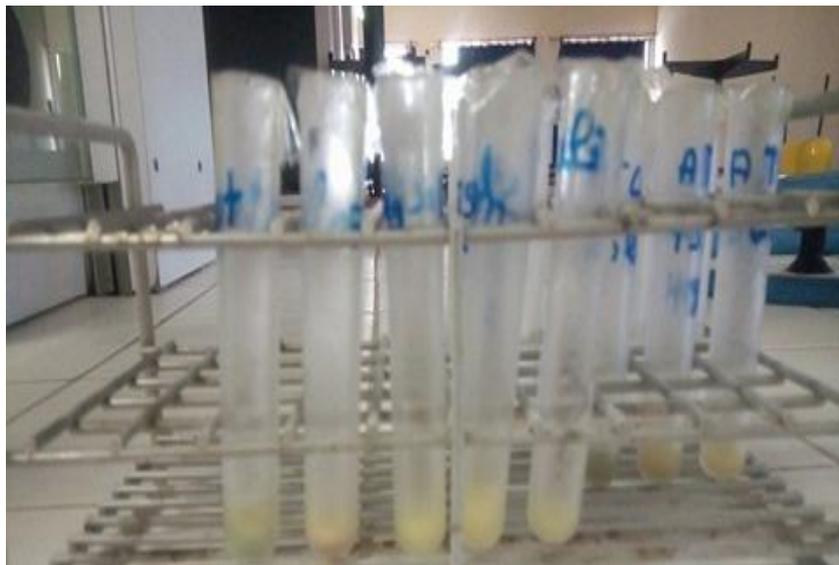


Figure 29: Aliquotes de selles et urines.

2.1.2 Enrichissement sélectif

Objectif

Favoriser la croissance des bactéries indicatrices tout en inhibant la croissance des autres bactéries, qui, après incubation, se retrouvent alors majoritaires dans le bouillon sélectif utilisé.

Dans cet esprit nous mettons en valeur trois phénomènes :

***L'action sélective du céfotaxime à 06 µg/ml sur les souches d'*Escherichia coli* présentes dans l'échantillon:** qui élimine les bactéries qui lui sont sensibles, la concentration choisie correspond au seuil de sensibilité d'*Escherichia coli*. [72-73-75], **il s'agit pour *Escherichia coli*, d'un marqueur de multirésistance.**

***L'effet inoculum :** qui permet d'amortir l'effet inhibiteur du céfotaxime en s'adsorbant sur les bactéries surnuméraires, ainsi les bactéries présentant certains mécanismes de résistance peuvent survivre à des concentrations fixées. [73-74]

***La résistance naturelle aux C3G chez l'entérocoque.** [72]

- Le choix d'avoir recours à un marqueur de résistance est aussi dû au fait qu'en milieu communautaire, la population est porteuse d'un mélange de souches sensibles et résistantes, de ce fait, la détection des résistances est rendue délicate et nécessite l'isolement d'un nombre significatif de colonies pour un même patient afin d'augmenter les chances de retrouver la souche résistante.

Mode opératoire

Cette étape est réalisée en transférant quelques gouttes du bouillon de pré-enrichissement dans un bouillon sélectif : Bouillon nutritif à une concentration de 06 µg/ml de céfotaxime en mettant un disque de cet antibiotique chargé de 30µg dans 05 ml de bouillon nutritif.

Chaque tube est homogénéisé pour permettre la formation d'une solution homogène. Les tubes sont alors placés dans l'étuve à 37°C pendant 24h.



Figure 30 : Suspensions de selles et d'urines déchargées dans des tubes de bouillon nutritif avec un disque de céfotaxime 6 μg .

2.1.3 Isolements, purifications et identification

Objectif

Obtenir des colonies isolées sur milieu chromogène.

Mode opératoire

Par ensemencement des souches sur milieu chromagar® : à l'aide de l'anse de platine stérile on dépose une goutte du bouillon sur la gélose et on ensemence par la technique des quatre quadrants. Une fois ensemencées, les géloses sont incubées à 37° pendant 24h.



Figure 31 : *E. coli* sur milieu Chromagar®
(Grosses colonies roses)



Figure 32 : Entérocoque sur milieu chromagar®
(Petites colonies bleues)

La lecture est visuelle

**Escherichia coli* donne de grosses colonies roses.

*Les streptocoques fécaux donnent de fines colonies bleues, nécessitant ainsi un diagnostic différentiel entre *Enterococcus* spp et les autres streptocoques fécaux.

Les deux types de colonies sont ré-isolées sur le même milieu afin d'obtenir de souches pures, l'isolement se fait en prélevant à l'aide d'un cure dent plusieurs colonies du même type afin de maximiser les chances de tomber sur un germe résistant.

L'ensemencement se fait par stries ou par spote (la méthode est détaillée dans la fiche technique N°2 dans l'annexe 6).

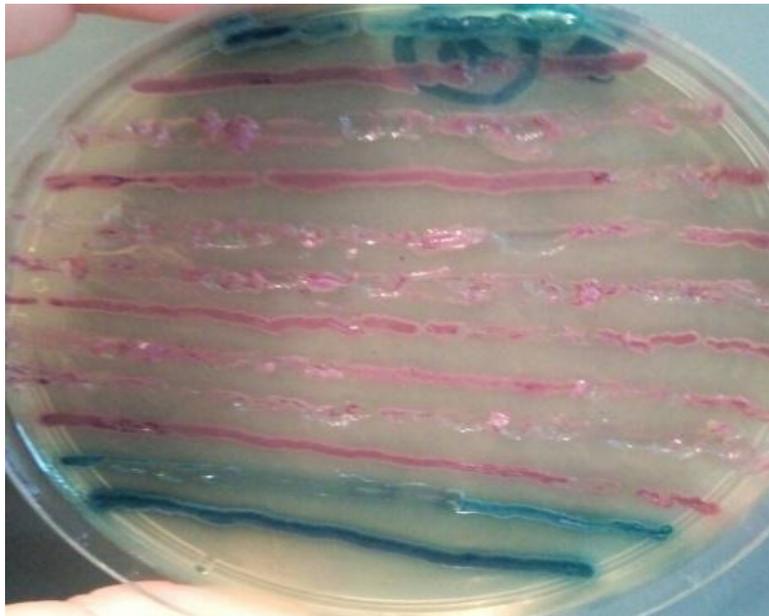


Figure 33 : Isolement par technique des stries.

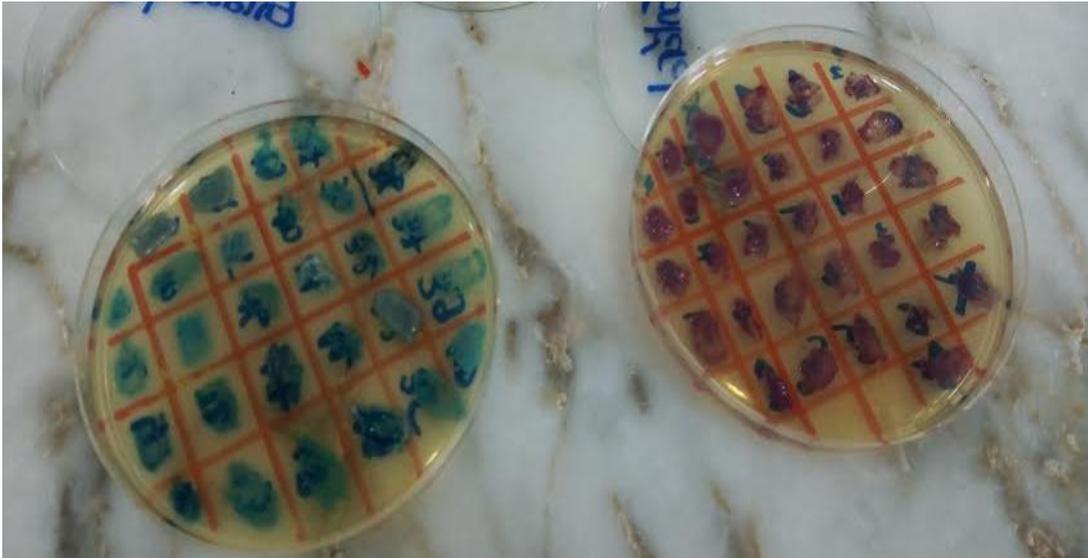


Figure 34 : Isolement par technique des spots.

Cette technique d'isolement nous permet d'avoir une vingtaine de souches sur la même boîte comme le montre la figure et donc économisé le milieu chromagar®.

*La Confirmation du genre *Enterococcus* spp est basée sur un ré-isolement des colonies bleues sur gélose sélective Bile-Esculine-Azide BEA

-Les entérocoques donnent au bout de 24h des colonies entourées d'un halo noir.



Figure 35 : Milieu BEA.

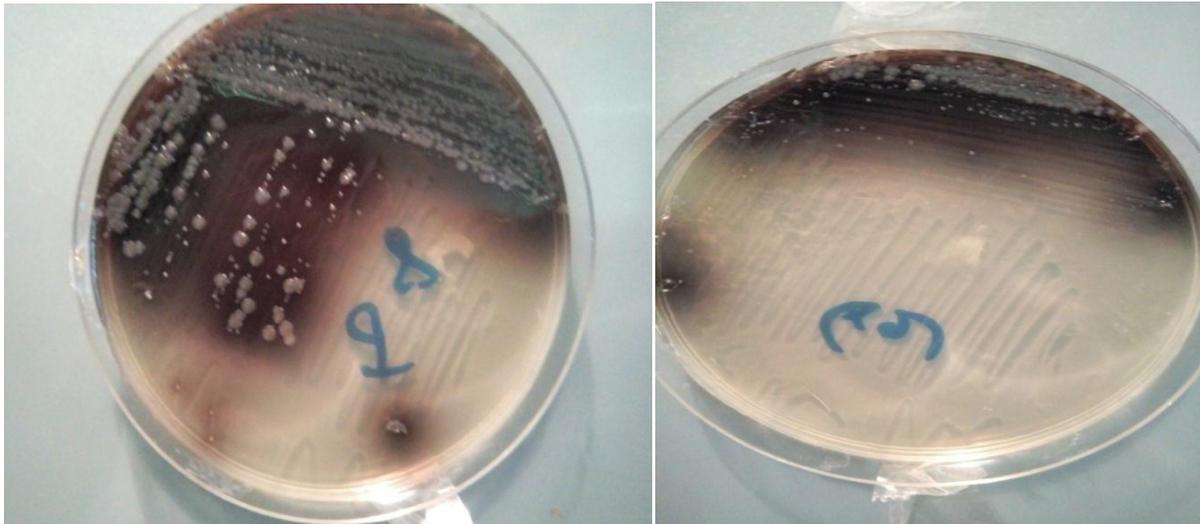


Figure 36 : *Enterococcus* spp sur milieu bile esculine azide.

2.1.4 Test de sensibilité aux antibiotiques [la méthodologie est décrite dans la fiche technique N°4]

Antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du réseau national de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques (7^{ème} édition).

Les souches résistantes font l'objet de tests complémentaires de sensibilité aux antibiotiques suivant les mêmes recommandations.

Contrôle qualité

Un contrôle de qualité est réalisé dans les mêmes conditions du test effectué pour les souches à étudier.

Les détails de l'intérêt et les manipulations lors d'un contrôle de qualité sont rapportés dans la fiche technique N°3.



Figure 37 : Préparation de l'inoculum bactérien.

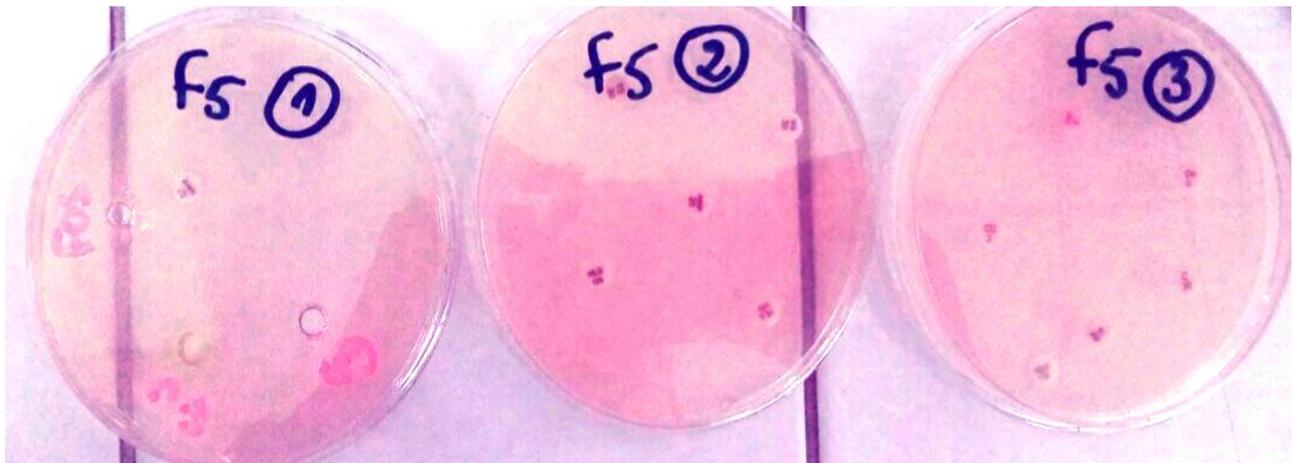


Figure 38 : réalisation de l'antibiogramme.

Après incubation, nous procédons à :

- lecture des diamètres d'inhibitions ;
- observation d'images de synergie entre l'AMC et les autres bêta lactamines (*Escherichia coli*) ou d'antagonisme entre l'Erythromycine et la Clindamycine (*Enterococcus spp*) ;
- effectuer les tests complémentaires de sensibilité aux antibiotiques.

2.2 Enregistrement et analyse des données

L'enregistrement et analyse des résultats de l'étude ont été faits à l'aide de logiciel Whonet (les détails sont rapportés dans l'annexe N°3) et de Microsoft Excel 2013.

2.3 Tests complémentaires de sensibilité aux antibiotiques [les détails techniques sont décrits dans les fiches N° 5-6-7-8]

2.3.1 Détection de la β -lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries

Après l'antibiogramme. En cas de réduction de la sensibilité aux céphalosporines de troisième génération, les BLSE ont été mises en évidence par la recherche d'une synergie entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération.

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

- céfotaxime (CTX ≤ 27 mm),
- ceftazidime (CAZ ≤ 22 mm),
- ceftriaxone (CRO ≤ 25 mm),
- aztréonam (ATM ≤ 27 mm).

Méthodes de détection des BLSE selon les règles de la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale :

➤ Test de synergie

▪ Principe

La production de BLSE est mise en évidence par la présence d'une réaction de synergie entre un disque imprégné d'inhibiteur de bêta-lactamases (acide clavulanique) et un disque imprégné d'une céphalosporine large spectre, de 3ème ou de 4ème génération. Cette réaction se manifeste sur l'antibiogramme par une image dite en « bouchon de champagne » ou de « synergie ». En effet, la résistance seule aux céphalosporines large spectre sur l'antibiogramme n'est pas suffisante pour parler de BLSE. Une bactérie résistante aux céphalosporines large spectre est soit une BLSE, soit une céphalosporinase non BLSE qui est insensible aux inhibiteurs de β -lactamases (et donc, ne provoquera pas d'image de synergie).



Figure 39 : Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie.

D'après la figure la synergie n'est pas bien montrée. Lorsqu'un second mécanisme de résistance est susceptible de masquer la présence de l'image de synergie, il est possible de retrouver cette dernière en rapprochant les disques de C3G ou de l'aztréonam (10 à 20) du disque de l'AMC. La préparation de l'inoculum et l'ensemencement se font de la même manière que le test de synergie, le disque AMC est placé au milieu de la boîte de Pétri.

Dans notre pratique nous avons rapprochés les disques de AMC et CTX de 10mm 15mm 20mm pour mettre en évidence la réaction de synergie



Figure 40 : Rapprochement des disques AMC et CTX de 10mm 15mm 20mm.

La détermination du type de BLSE, céphalosporinases ou pénicillinases est ensuite faite par PCR puis séquençage.

➤ **Test de confirmation ou technique du double disque (appelé aussi test espagnol)**

Ce test devra être fait systématiquement devant :

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



Figure 41: Test du double disque sur MHS.

Le test est positif, le diamètre de la zone d'inhibition du disque de C3G est inférieur de 4 à 5 mm, comparé à celui observé autour du disque de C3G appliqué après pré diffusion du disque de l'AMC.

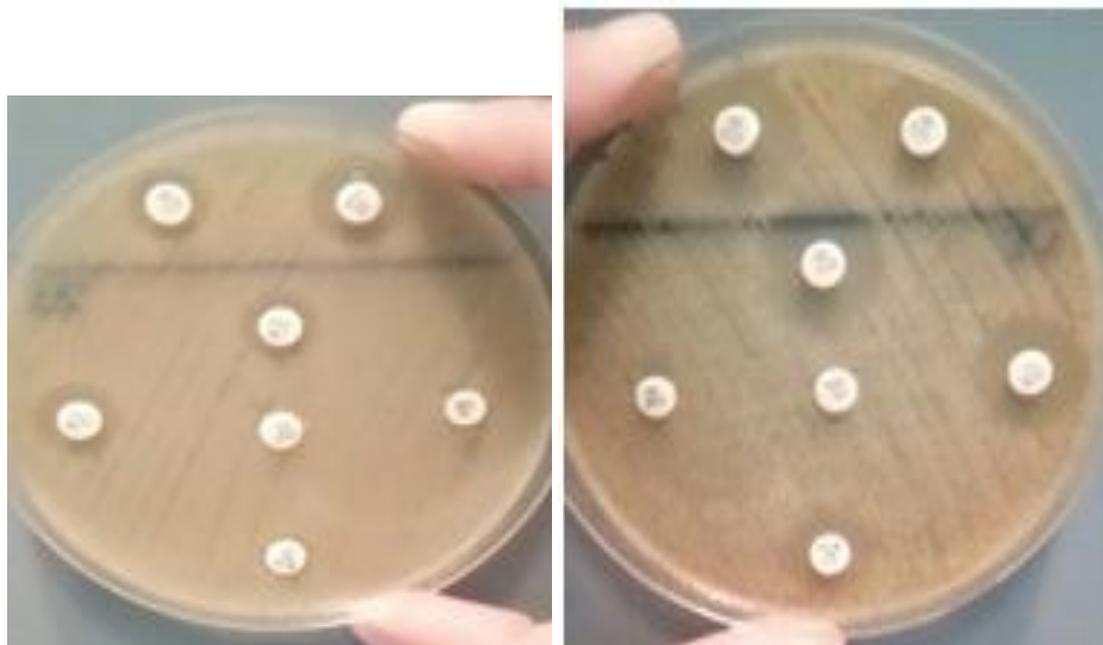
➤ Test à la cloxacilline

(Test de synergie sur milieu MH additionné d'oxacilline 0,25 mg/ml)

▪ Principe

Pour certaines souches des entérobactéries, il est parfois difficile de distinguer sur l'antibiogramme habituel les hypersécrétions des céphalosporinases des BLSE.

La cloxacilline, ajoutée au milieu pour l'antibiogramme (MH), inhibe *in vitro* les Cases et reste inefficace sur les pénicillinases des bacilles à gram négatif. Si un tel mécanisme de résistance est présent on constate en comparant les boîtes de pétri contenant le milieu Mueller-Hinton à la cloxacilline une restauration de l'activité des β -lactamases et apparition de l'image de synergie est recherchée.



A : antibiogramme sur MH

B : antibiogramme sur MH+oxacilline

Figure 42 : test de synergie positif sur MHOX révélant l'association d'une BLSE et d'une Céphalosporinase.

▪ Interprétation

L'inhibition de la Case entraîne :

1) L'apparition des phénotypes sauvages de l'entérobactérie.

Ou

2) L'apparition d'autres mécanismes de résistances acquises tels que :

- Synthèse de BLSE

- Pénicillinase
- Imperméabilité

La comparaison entre les 2 boîtes A, B montre qu'il y a une différence de diamètre d'inhibition autour des céphalosporines de 3^{ème} génération entre les deux tests : apparition du diamètre d'inhibition dans la boîte B. Donc chez cette souche on a détecté l'association de deux mécanismes de résistance : sécrétion d'une BLSE et céphalosporinase hyperproduite.

2.3.2 Recherche de la b-lactamase (test de trèfle)

La recherche de la sécrétion de la b-lactamase est obligatoire pour toute souche de *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus* spp, *Branhamella catarrhalis*, *Enterococcus* spp, *Staphylococcus* spp. Ces tests doivent être effectués précocement, en raison des implications thérapeutiques évidentes. Plusieurs techniques existent : chromogéniques, microbiologiques et iodométriques. La technique chromogénique permet de donner les résultats le jour même, mais à défaut de pouvoir la pratiquer, les techniques microbiologiques doivent être utilisées.

Résultats

-Si le test est négatif donc la souche est sensible à l'antibiotique donc y'a pas de sécrétion de β -lactamase.

-Si le test de trèfle sur des souches est positif présence d'une image de « feuille de trèfle » formée entre la souche testé, la souche de *S.aureus* ATCC 43300 (témoin +) et l' induction d'une culture de la souche de *S.aureus* ATCC 25923 (témoin -) jusqu'au disque d'AMX : donc y'a une sécrétion de β -lactamase.

2.3.3 Détermination de CMI par bandelettes E-test®

Cette technique utilisant des bandes imprégnées d'un gradient de concentration d'antibiotique permet de mesurer simplement et rapidement la concentration minimale inhibitrice CMI d'un antibiotique, dans les mêmes conditions de l'antibiogramme.

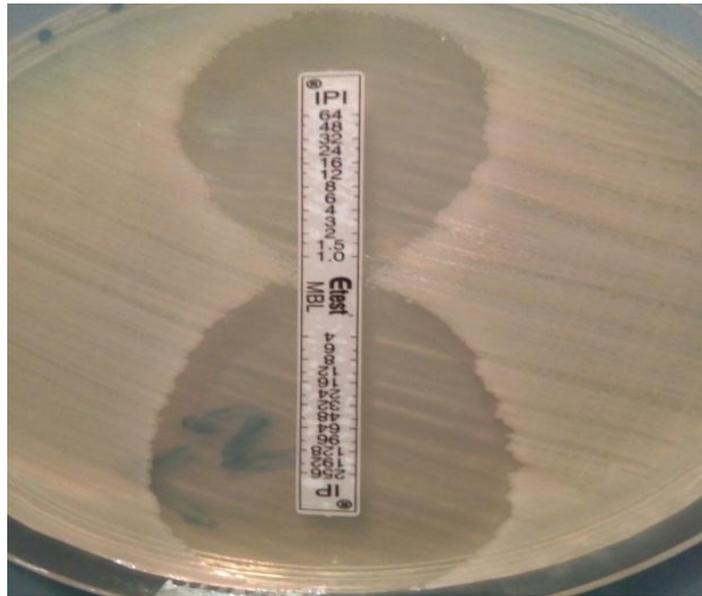


Figure 43 : CMI de l'imipénème+EDTA d'une souche de *E.coli*.

C'est une technique de diffusion en milieu gélosé permettant de mesurer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique. Pour la détection des BLSE, ces bandelettes se présentent sous la forme d'une bande de cellulose imprégnée d'un côté d'un gradient de ceftazidime ou de céfotaxime et de l'autre d'un gradient de la même molécule associée à l'acide clavulanique. Ces bandelettes sont appliquées sur la surface d'un milieu gélose MH préalablement inoculé.

Le test est positif lorsqu'on observe une réduction d'au moins 3 dilutions de CMI de la Ceftazidime (ou céfotaxime) en présence de l'acide clavulanique.

Au cours de notre pratique nous n'avons reçus que les bandelettes d'imipénème +EDTA.

La figure15 montre qu'*Escherichia coli* est sensible à cet antibiotique.

2.3.4 Détermination de la CMI par micro méthode (sur microplaquette)

Nous avons utilisés cette méthode pour déterminer les CMI de 2 antibiotiques : céfotaxime et ceftazidime vis-à-vis de 4 souches *Escherichia coli* BLSE.

Il convient, pour déterminer si une souche bactérienne est résistante ou non à un antibiotique, de déterminer sa CMI. C'est la mesure des diamètres d'inhibition qui permet d'avoir accès aux CMI de la souche bactérienne.

L'obtention des CMI permet de classer la souche bactérienne dans l'une des trois catégories suivantes :

-S : souche Sensible à l'antibiotique testé,

-R : souche Résistante à l'antibiotique testé,

-I : souche de résistance Intermédiaire à l'antibiotique testé.

La classification d'une souche bactérienne dans l'une de ces catégories est obtenue en comparant les CMI obtenues à des concentrations critiques propres à chaque antibiotique.

Les concentrations critiques sont données par des organisations spécialisées (Clinical and Laboratory Standard Institute) pour chaque duo bactérie/antibiotique.

La CMI correspond à la concentration de la cupule ne présentant pas de croissance.

▪ Contrôle qualité

-Souche *E.coli* ATCC 25922.

-Détermination de CMI de CTX de la souche de référence.

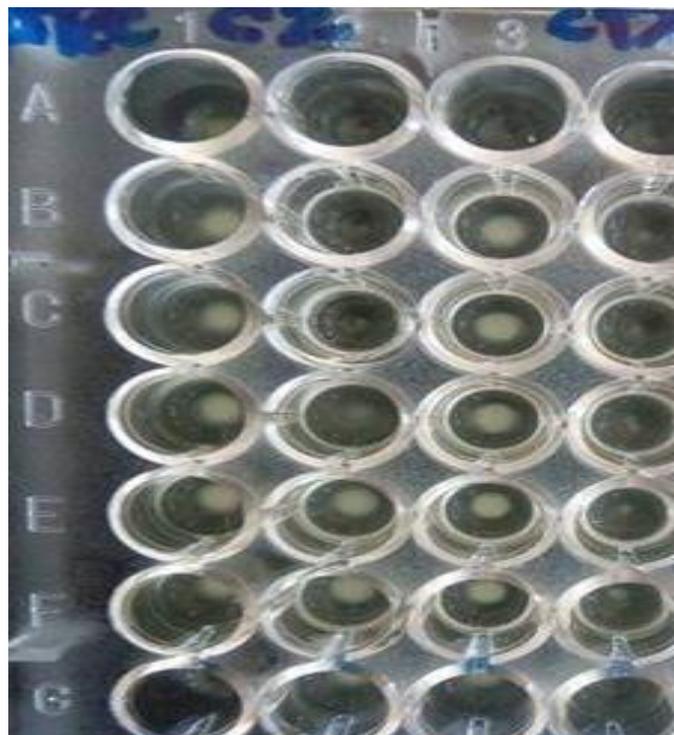


Figure 45 : CMI de CAZ et CTX vis-à-vis d'*E.coli* ATCC 25922.
CTX : CMI= 01µg/ml

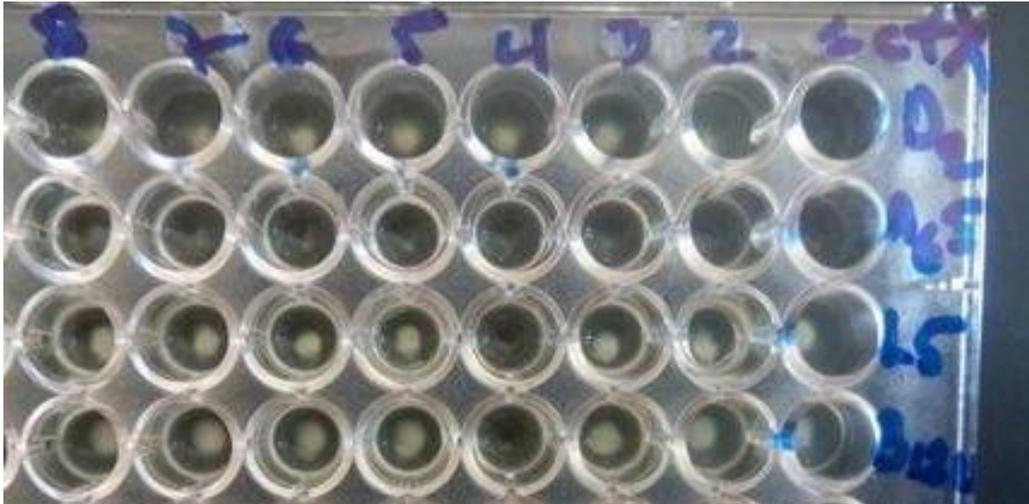


Figure 45 : CMI de céfotaxime vis-à-vis des souches BLSE+, on note sur l'image les CMI suivantes : D2=128 μ g/ml, A₆₅ \geq 64 μ g/ml, L5 >128 μ g/ml, B12U >128 μ g/ml.

→ Concentration critique de céfotaxime :

R \geq 4 I=2 S \leq 1

Les souches sont résistantes au céfotaxime



Figure 46 : CMI de ceftazidime vis-à-vis des souches BLSE D2 \geq 32 μ g/ml ; A₆₅ \geq 64 μ g/ml; L5 >128 μ g/ml; B12U >128 μ g/ml.

→ Concentration critique de ceftazidime :

0.06-0.5 mg/l

Les souches sont résistantes au ceftazidime

NB : la résistance préférentielle au céfotaxime par rapport au ceftazidime est potentiellement due à la production d'une BLSE de type CTX-M (Céfotaximase).

**III- RESULTATS
ET
DISCUSSION**

Au total, 141 échantillons ont été inclus durant notre étude.

Pour faciliter l'étude statistique, les souches à sensibilité intermédiaire et résistante ont été regroupées dans une seule catégorie : %R+I.

Les résistances décrites pour l'ensemble des antibiotiques sont associés au marqueur sélectionné, il n'est pas écarté que les taux de résistance considéré pour chaque famille d'antibiotiques soit différent de ceux rapportés dans cette étude, cependant les publications confortent nos chiffres.

1. Taux global des enrichissements sélectifs N=141

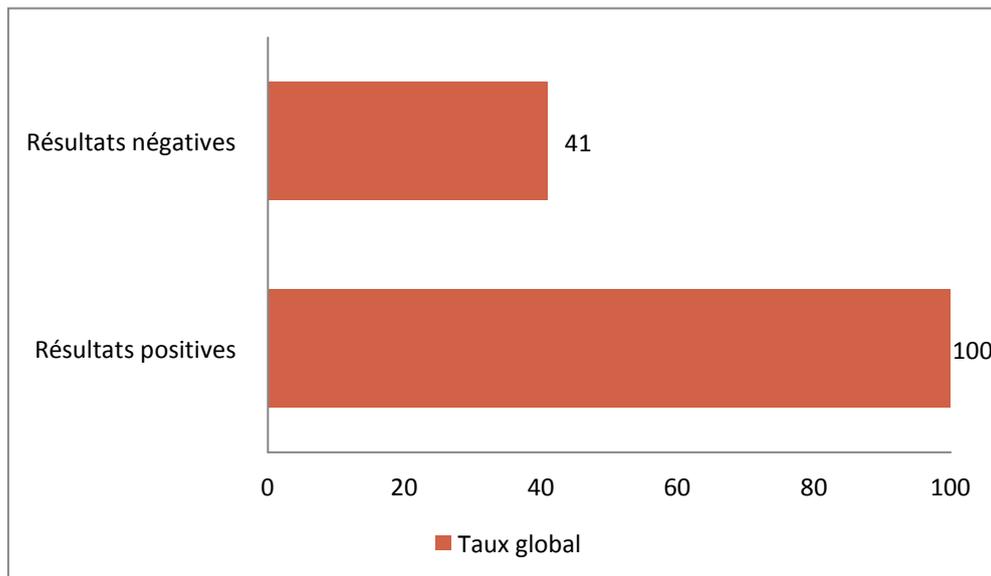


Figure 47 : Taux global des enrichissements sélectifs N=141.

- 41 patients *a priori* non hospitalisés négatifs.
- 100 patients *a priori* non hospitalisés positifs : correspondant à notre étude qui sont positifs à *Escherichia coli* et *Enterococcus* spp.

2. Taux de positivité global des enrichissements sélectifs N=100

Le nombre total de selles positives est de : 55 dont 34 positives à *Escherichia coli* et 21 positives à *Enterococcus* spp et 15 positives pour les deux germes.

Le nombre total d'urines positives est de : 45 dont 18 positives à *Escherichia coli* et 27 positives à *Enterococcus* spp et 3 positives pour les deux germes.

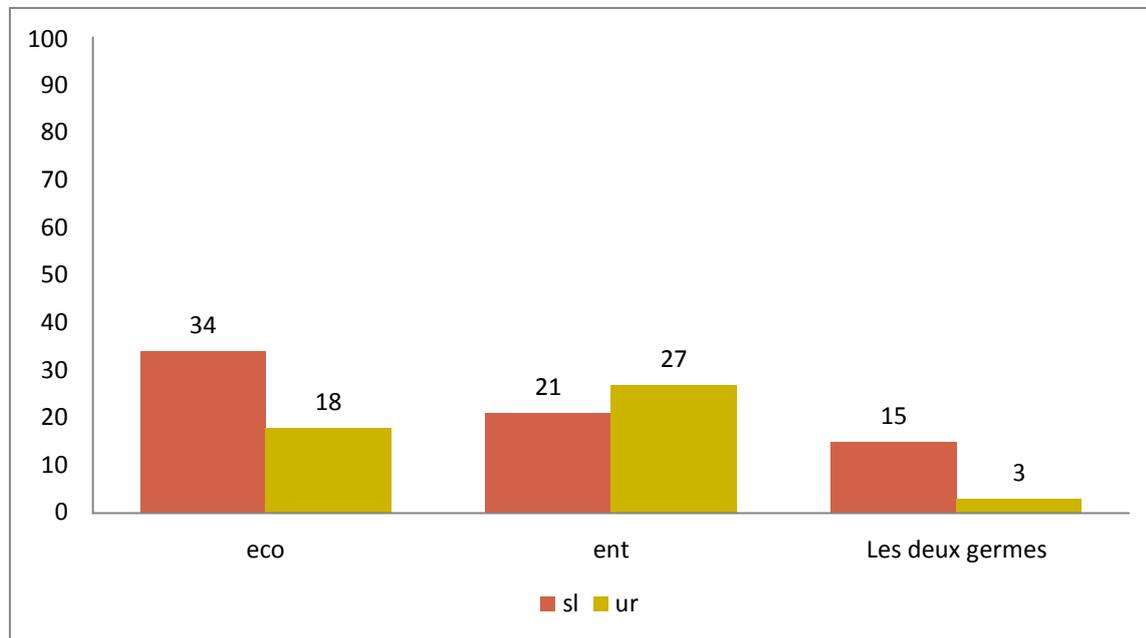


Figure 48 : Taux de positivité global des enrichissements sélectifs N=100

La prédominance des espèces d'*E.coli* parmi les souches analysées. [76] Ceci pourrait s'expliquer par le fait que l'espèce *E.coli* constitue l'agent bactérien le plus incriminé [77-78], qui est donc considéré comme le premier responsable d'infections communautaires et nosocomiales [79- 80].

Dans le milieu communautaire, parmi les entérobactéries *E.coli* constitue l'espèce prédominante avec un pourcentage de 68%, suivie de *Klebsiella* spp (15.7%). [76]

3. La répartition des micro-organismes *Escherichia coli* et *Enterococcus spp* selon le sexe (N=100)

3.1 *Escherichia coli*(N=52)

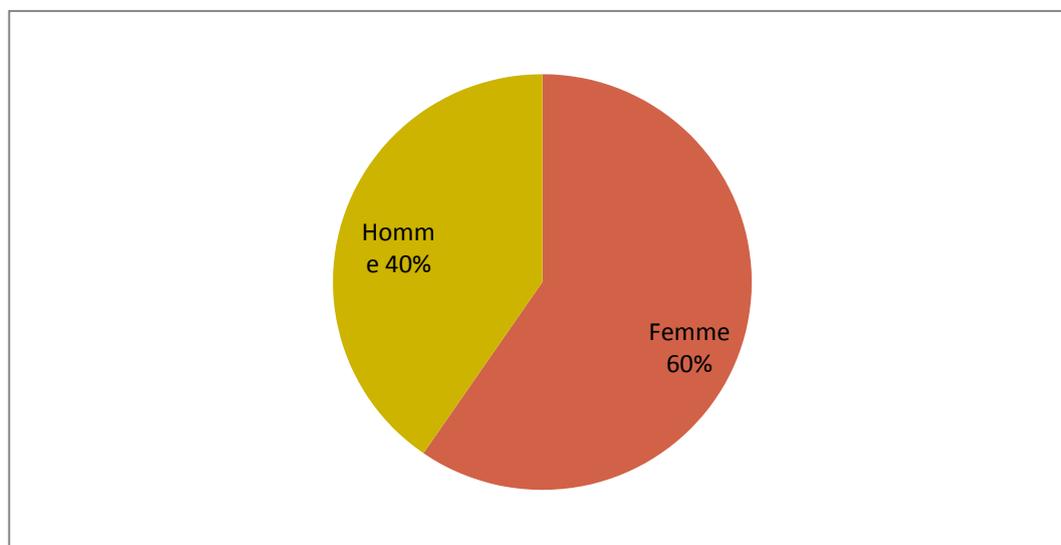


Figure 49 : Pourcentage de souches d'*E.coli* selon le sexe. N=52

- 31 souches qui présentent le sexe féminin.
- 21 souches qui présentent le sexe masculin.

3.2 *Enterococcus spp* N=48

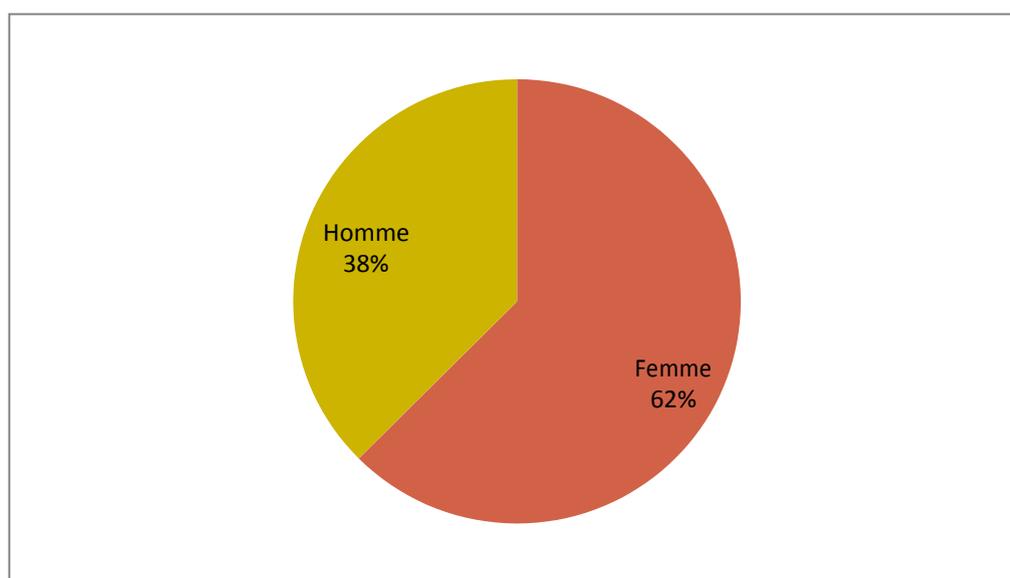


Figure 50 : Pourcentage de souches d'*Enterococcus spp* selon le sexe=48

- 30 souches présentent le sexe féminin.
- 18 souches présentent le sexe masculin.

La prédominance féminine par rapport au sexe masculin dans les deux cas : *Escherichia coli* et *Enterococcus* spp

4. Caractéristiques de la résistance des micro-organismes

4.1. *Escherichia coli*(N=52)

a. Profil global de la résistance aux antibiotiques (N=52)

Tableau III : Profil global de la résistance d'*E. coli* aux antibiotiques. (N=52)

Nom de l'antibiotique	%R+I	%S
Ampicilline	61,5	38,5
Amoxicilline/Acide clavulanique	61,5	38,5
Céfazoline	34,6	65,4
Céfotaxime	25	75
Céfoxitine	17,3	82,7
Imipenème	0,8	99,2
Amikacine	1,9	98,1
Gentamicine	7,7	92,3
Acide nalidixique	38,5	61,5
Ciprofloxacine	36,5	63,5
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	40,4	59,6
Fosfomycine	1,9	98,1
Nitrofurantoïne	1,9	98,1
Chloramphénicol	7,7	92,3

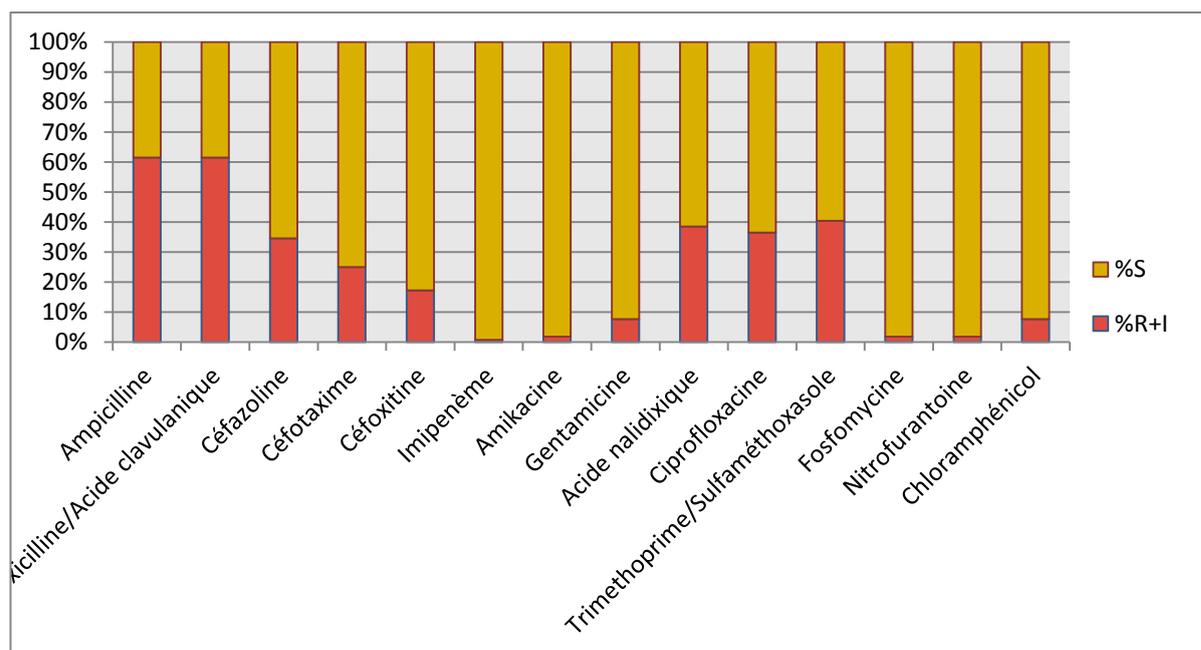


Figure 51 : Répartition des résistances d'*E. coli* aux antibiotiques N=52

L'étude de la sensibilité des antibiotiques a montré des résistances importantes des souches d'*E. coli* à l'ensemble des antibiotiques testés. La résistance aux aminopénicillines (amoxicilline) et l'amoxicilline / acide clavulanique est la plus fréquente, cela pourrait être due à la prescription le plus souvent empirique de ces molécules particulièrement en médecine ambulatoire dans l'attente des résultats de l'ECBU.

Par comparaison à une étude qui a été faite en milieu communautaire entre 2007 et 2011 à Guelma [81]:

- Le taux de résistance acquise le plus élevé a été observé avec l'ampicilline (75%), ce taux concorde bien les résultats obtenus par le réseau national de surveillance de la résistance aux antibiotiques (RNSRA) 70%, et donc ça reste nettement supérieure à ceux que nous avons retrouvé durant notre étude (61%).
- L'association amoxicilline/acide clavulanique (46%).
- 30% à céfazoline, un pourcentage de résistance qui concorde avec notre étude (34%). Ce taux à atteint 13% à Ain M'Lila dans l'Est algérien et 27% à l'échelle nationale. Ainsi notre étude confirme la tendance à la hausse de la résistance aux C1G.
- 5% à céfotaxime, ça reste nettement inférieur par rapport à ceux que nous avons retrouvé dans notre étude (25%), traduirait l'augmentation de la consommation abusive de ces antibiotiques.

- Aucune résistance à l'imipenème n'a été détectée.

Par comparaison à une étude qui a été faite en Janvier 2013-Mars 2015, de nouveaux habitants de différentes provenances nationales, mais aussi maghrébines (Sahara occidental) et d'Afrique-Sub-saharienne : {L'étude s'étale sur une période de 27 mois} [82]

- Chez *Escherichia coli* : 01 seule souche multirésistante, 90% des souches sont résistantes à l'ampicilline et à son association à l'acide clavulanique, 55% des souches expriment un diamètre d'interprétation « sensible » à la céfazoline, 7% des souches sont résistantes aux céphalosporines.

-Dans notre étude, nous avons trouvé une seule souche multirésistante qui présente une résistance à nitrofurantoine-quinolone-cotrimoxazole. N=52

Dans certains types d'infection, par exemple urinaire : on utilise la fosfomycine comme traitement de première intention, les furanes comme traitement de deuxième intention, et le cotrimoxazole comme traitement de troisième intention.[83]

b. Etude des profils de résistance aux différentes familles d'antibiotiques

b.1. Les bêta lactamines(N=52)

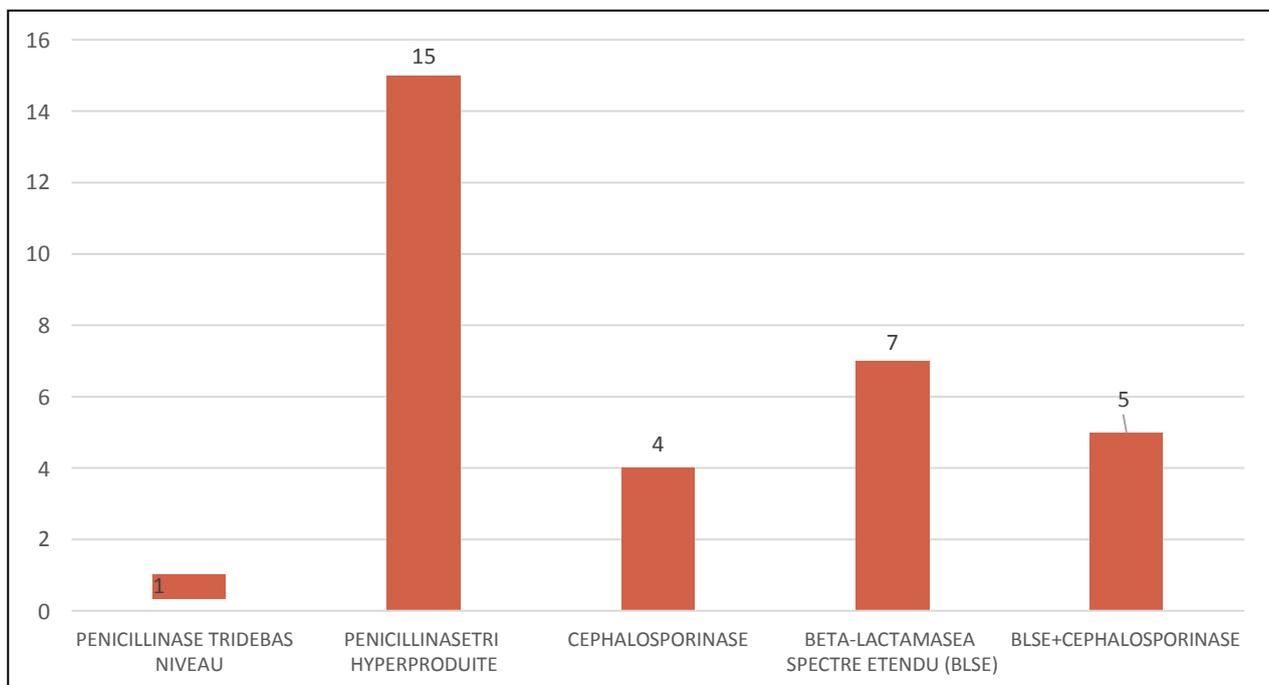


Figure 52 : Phénotypes de résistances aux β -lactamines. N=52

Hormis 20 souches sensibles à toutes les bêta-lactamines testées, les phénotypes de résistance suivant ont été recensés : [73]

➤ 01 souche exprimant le phénotype AMP+AMC : correspondant à la production d'une pénicillinase de bas niveau résistante aux inhibiteurs (TRI) confirmée par un test de trèfle sur MHS. {voir fiche technique N°06}

➤ 15 souches exprimant le phénotype AMP+AMC+CZ : correspondant à la production d'une pénicillinase hyperproduite résistante aux inhibiteurs (TRI) confirmée par un test de trèfle sur MHS.

➤ 04 souches exprimant le phénotype AMP+AMC+CZ+FOX : correspondant à l'expression d'une céphalosporinase.

➤ 07 souches exprimant le phénotype AMP+AMC+CZ+CTX : correspondant à la production d'une bêta lactamase à spectre étendu (BLSE) confirmée par un test de synergie positif sur MHS. {voir fiche technique N°05}

➤ 05 souches exprimant le phénotype AMP+AMC+CZ+FOX+CTX : correspondant à l'association d'une bêta lactamase à spectre étendu et d'une céphalosporinase confirmée par l'apparition d'un test de synergie positif sur MHOX.

NB : la présence ou l'absence d'une céphalosporinase ont été confirmés par l'adjonction de MHOX.

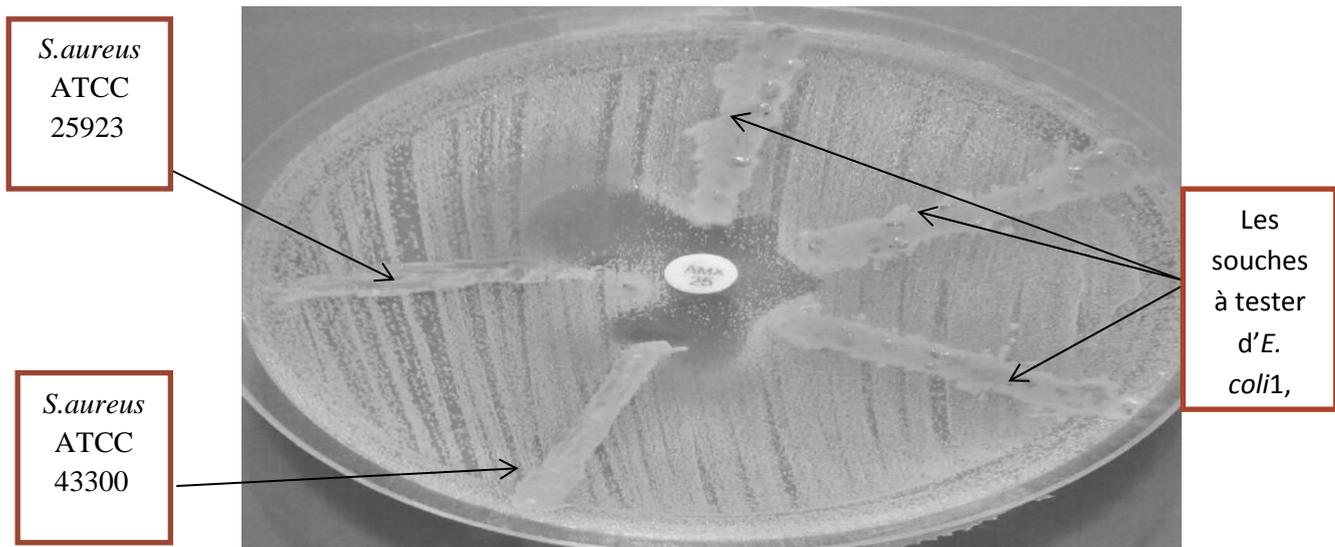


Figure 53 : Test de trèfle positif = culture positive de l'ATCC *Staphylococcus aureus* 25923 autour de la strie de la souche d'*E.coli* à tester.

Production de β -lactamase {pénicillinase} par *Escherichia coli* et la souche témoin positif (*S.aureus* ATCC 43300) . la souche témoin négatif (*S.aureus* ATCC 25923) est sensible à l'amoxicilline.

→ Ya formation d'une image : feuille de trèfle

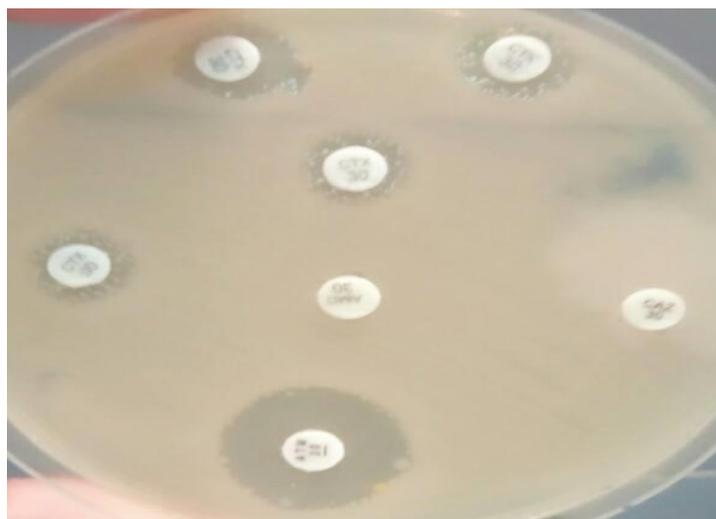


Figure 54 : Test de synergie et test de double disque négatifs sur MH.

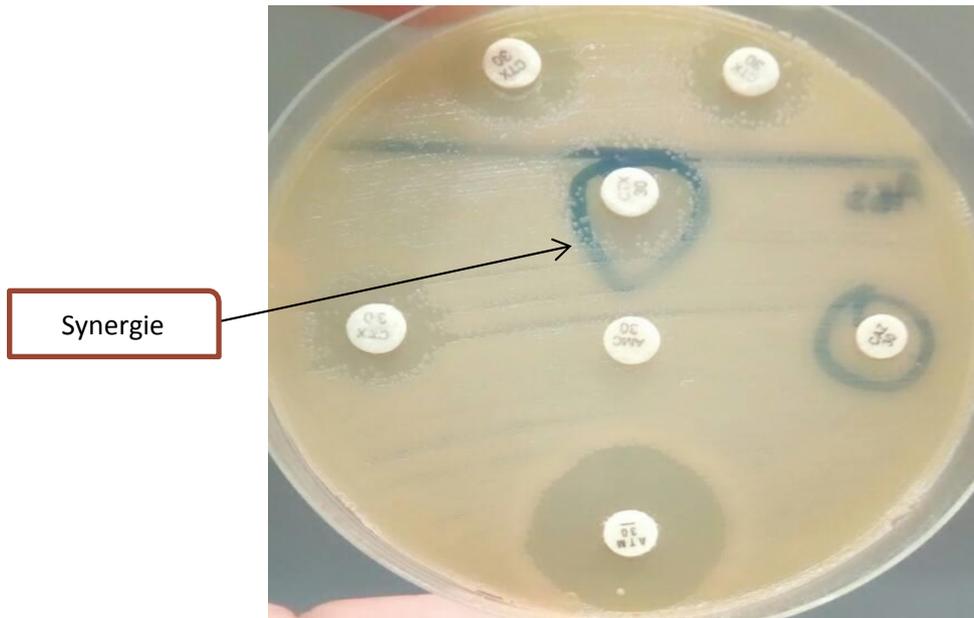


Figure 55 : Test de synergie et test de double disque positif sur MHOX.

Le dépistage systématique des souches productrices de BLSE selon la technique de test de synergie de double disque sur un milieu gélosé MH + MHOX, le résultat positif a été interprété par l'apparition de synergie « augmentation de diamètres d'inhibition » entre les disques d'antibiotique (bouchon de champagne), 06 souches correspondent à 11.54% d'*E.coli* comparées à 33,33 % (2/6) des *E. coli* étaient productrices de BLSE, recrutées dans une étude qui a été faite en 2014 à Annaba. [86]

Par comparaison aussi à une étude qui a été faite en 2017 en Algérie, 15 souches produisant de β - lactamase à spectre étendu dans un champ de "N= 319" [12]

Par ailleurs, Lors des deux dernières décennies, de nombreuses études ont montré l'augmentation, dans le monde, des infections à BLSE, peu de temps après l'introduction des céphalosporines de 3ème génération dans les pratiques médicales. Elles sont de plus en plus impliquées dans les infections tant nosocomiales que communautaires et constituent un réel problème de santé publique. Actuellement, ce mécanisme de résistance, connaît une propagation mondiale de plus en plus préoccupante voire même alarmante. Cependant, les BLSE sont le plus souvent localisées sur des plasmides conjugatifs transmissibles aussi bien au sein des souches bactériennes d'une même espèce qu'entre les espèces et genres bactériens différents.

Pour les 05 souches productrices de BLSE/BLSE+CEPHALOSPIRNASE, dont 04 sont des femmes et 02 sont des hommes. Ça pourrait être dû aux infections urinaires chez les femmes en raison de facteurs favorisants spécifiques (urètre court, grossesse..). [91-92]

b.2 Les quinolones (N=52)

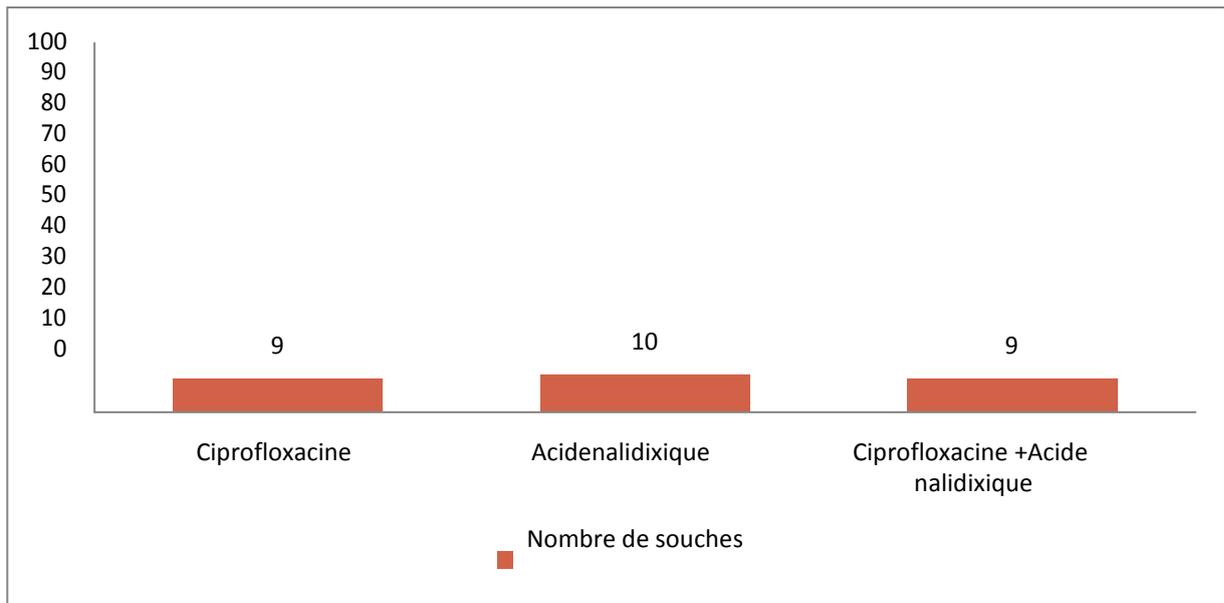


Figure 56 : Phénotypes de résistance aux quinolones. (N=52)

- 10 souches présentent le phénotype de résistance à l'acide nalidixique : probablement y'a une mutation au niveau de la gyrase A.
- 09 souches présentent le phénotype de résistance à la ciprofloxacin : pourrait être une mutation au niveau de la topoisomérase.
- 09 souches présentent le phénotype de résistance à l'acide nalidixique et à la ciprofloxacin : ça pourrait être une mutation au niveau de la gyrase A et au niveau de la topoisomérase.

Pendant longtemps la résistance aux quinolones était considérée purement chromosomique (Hooper, 2000 ; Ho et al, 2001), mais les études récentes montrent qu'elle peut être aussi plasmidique (Hooper, 2001 ; Sirot et al, 2002 ; Galaniet al, 2002). La résistance plasmidique est décrite pour la première fois en 1998 aux USA.

Deux autres mécanismes de résistance plasmidique sont rapportés récemment : inactivation

des quinolones par l'acetyltransférase AAc (6')-Ib-cr (Robicsek et al, 2006) et dernièrement, excréation active des fluoroquinolones via la pompe d'efflux QepA (Périchon et al, 2007)

Il n'existe pas de critères phénotypiques sur un antibiogramme permettant de distinguer les mécanismes de résistance chromosomiques et plasmidique aux quinolones.

La détection de ces mécanismes de résistance repose donc sur des techniques de biologie moléculaire (Nordman.P, Mammeri.H, 2007).

b.2.1 Répartition de phénotype de résistance d'*Escherichia coli* selon la catégorie d'âge aux quinolones (N=52)

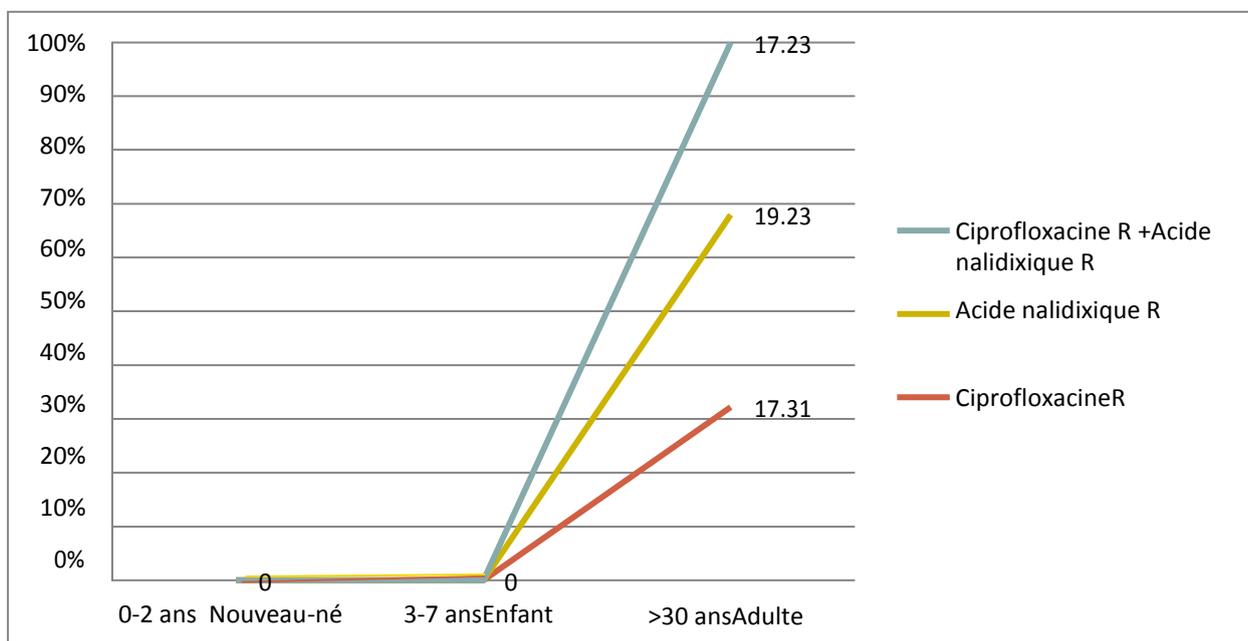


Figure 57 : Taux de résistance aux quinolones selon la catégorie d'âge. N=52

- La majorité de ces résistances ont été retrouvées chez les adultes, par contre aucune résistance aux quinolones n'a été observée chez les nouveau-nés et les enfants parce que les quinolones sont contre indiqués dans ce cas.

La présence préférentielle des phénotypes de résistances acquis, pouvant être qualifiés de haut niveau, chez les personnes âgées pourrait être la conséquence de la pression des antibiotiques, de la fragilité de ces patients, de l'utilisation répétée des antibiotiques de la même famille et des infections à répétition. [93]

De 1997 à 2001, la consommation de fluoroquinolones a considérablement augmentée à l'hôpital et surtout en « ville ».

La dissémination de la résistance aux quinolones chez *E. coli* n'est pas due à la transmission clonale de souches résistantes, en revanche, la pression de sélection exercée par les fluoroquinolones favorise cette évolution. [84]

Les quinolones sont massivement utilisées pour le traitement d'une grande variété d'infections bactériennes chez l'homme. Ainsi, les infections des voies urinaires, constituent le deuxième motif de prescription d'antibiotiques en médecine générale, après les infections des voies respiratoires.

L'utilisation abusive des quinolones, a conduit à l'apparition d'une résistance augmentée à ces antibiotiques, ce qui représente une préoccupation majeure de santé publique. [85]

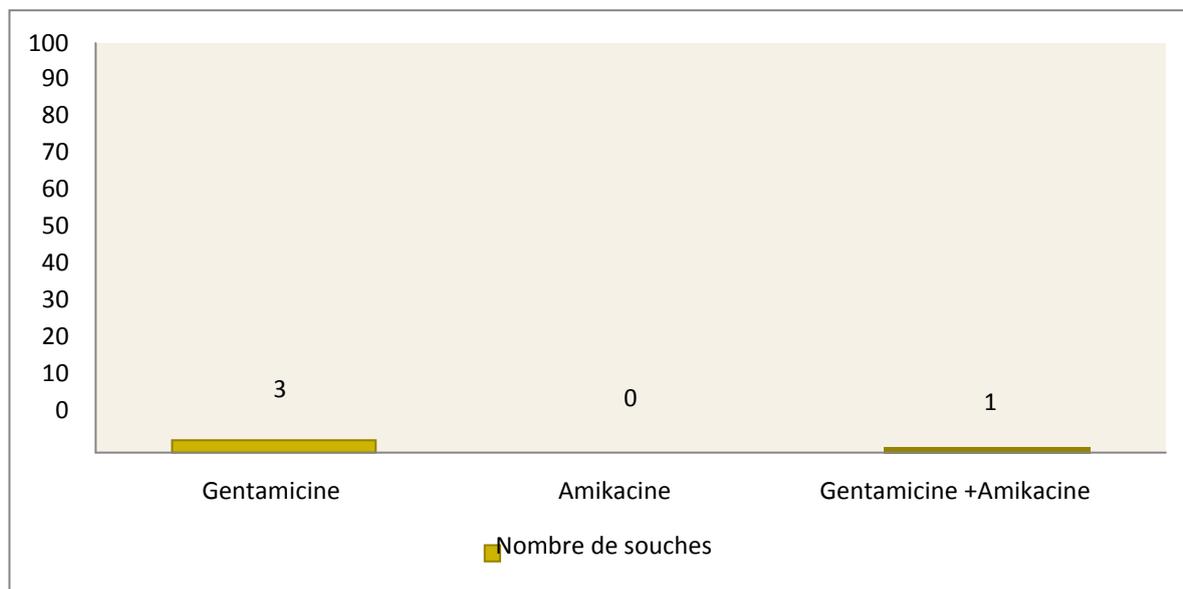
b.3 Les aminosides (N=52)

Figure 58 : Le nombre de souches présentant une résistance aux aminosides. N=52

- 03 souches correspondent à 5.77% présentent le phénotype de résistance à la gentamicine.
- 01 seule souche correspond à 1.92% était résistante à la gentamicine + l'amikacine.

• On comparant à une étude qui a été faite en Algérie en 2014, les souches d'*E.coli* étaient toutes résistantes à la gentamicine (phénotype OT), cependant 7 souches étaient sensibles à l'amikacine et 1 souche était résistante à cette molécule (phénotype GTA).[86]

La résistance aux aminosides est essentiellement liée à la production d'enzymes inactivatrices. Ces enzymes sont généralement portées par des plasmides ou des transposons chez *E.coli*.

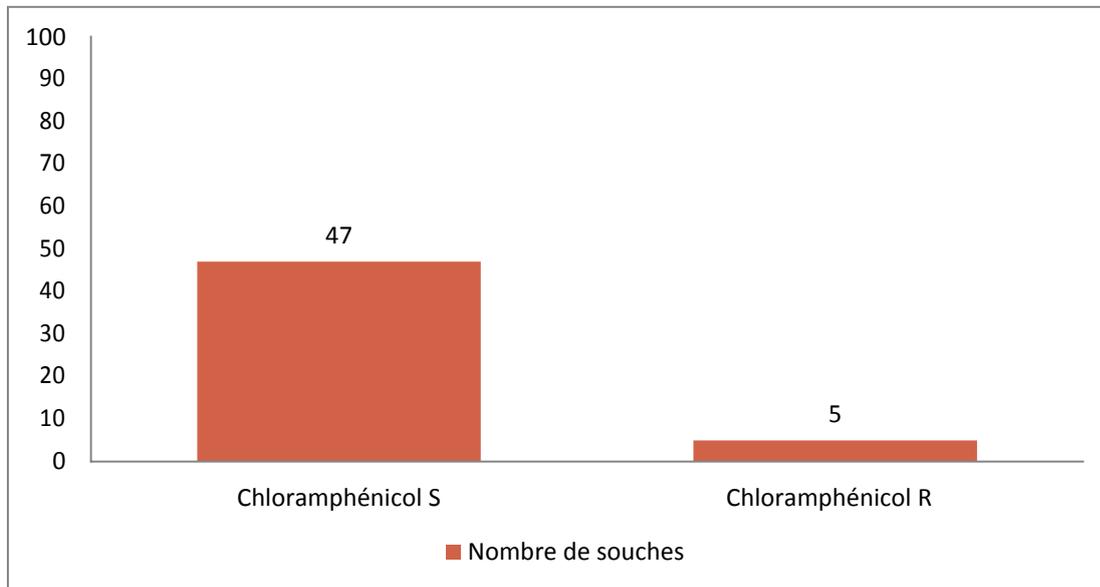
b.4 Les phénicolés (N=52)

Figure 59 : Nombre de souches résistantes à chloramphénicol. N=52

- 05 souches qui présentent le phénotype résistant à chloramphénicol.
- 9.62% présente le pourcentage de résistance d'*E.coli* à chloramphénicol, comparé à une étude qui a été faite en Algérie, le pourcentage a atteint 7.67%. [94]

La résistance ça pourrait être due à la présence du gène "cat" qui code pour une enzyme appelée chloramphénicol acétyltransférase qui dérive de la S-acétyl-coenzyme A. Cette enzyme permet d'acétyler un ou deux groupements hydroxyles du chloramphénicol et ainsi d'empêcher sa fixation sur le ribosome.

Le gène cat codant pour la résistance au chloramphénicol peut être trouvé sur des plasmides portant des résistances à d'autres molécules.

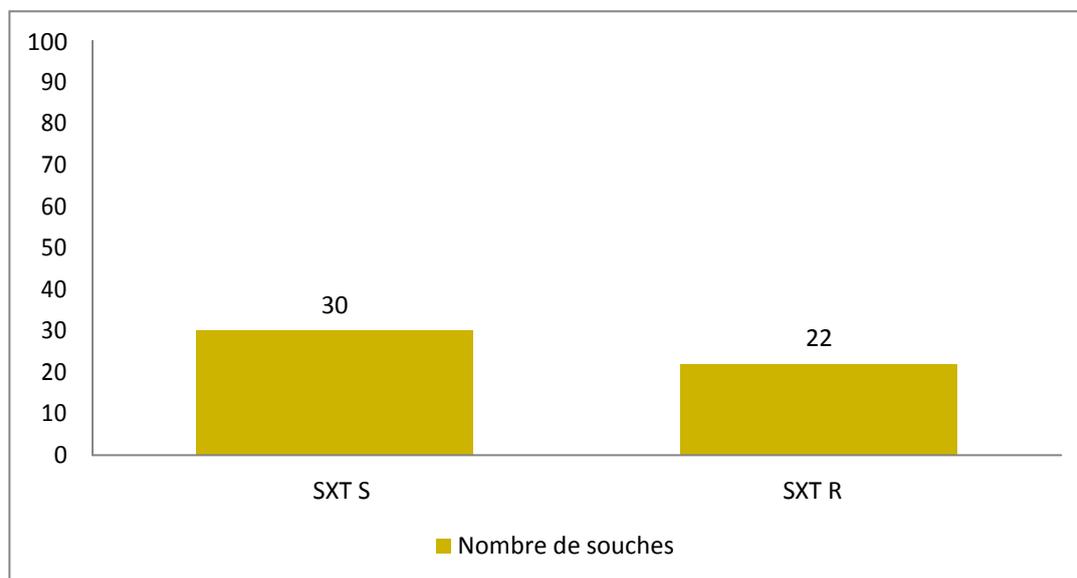
b.5 Les sulfamides + Triméthoprime (N=52)

Figure 60: Nombre de souches résistantes à cotrimoxazole. (N=52)

- 30 souches présentent le phénotype sensible.
- 22 souches présentent le phénotype résistant à sulfaméthoxazole +Triméthoprime.
- 42.31 % présente le pourcentage de résistance d'*E.coli* à cotrimoxazole, comparé à une étude qui a été faite à Guelma (Algérie) entre 2007 et 2011, il a atteint 50% en milieu communautaire. Et par rapport à une étude qui a été faite au Maroc en 2014, il a atteint 54% en milieu communautaire. Le niveau de résistance à l'acide nalidixique et à la ciprofloxacine est relativement élevé avec respectivement 7% et 11% par rapport à notre étude. [81]

Le Sulfaméthoxazole + Triméthoprime, un antibiotique utilisé dans le traitement des IUC. Dans notre cas il n'est actif que sur 42.31% des souches d'*E.coli* isolées.

c. Evolution de la résistance chez *Escherichia coli* (N=52)

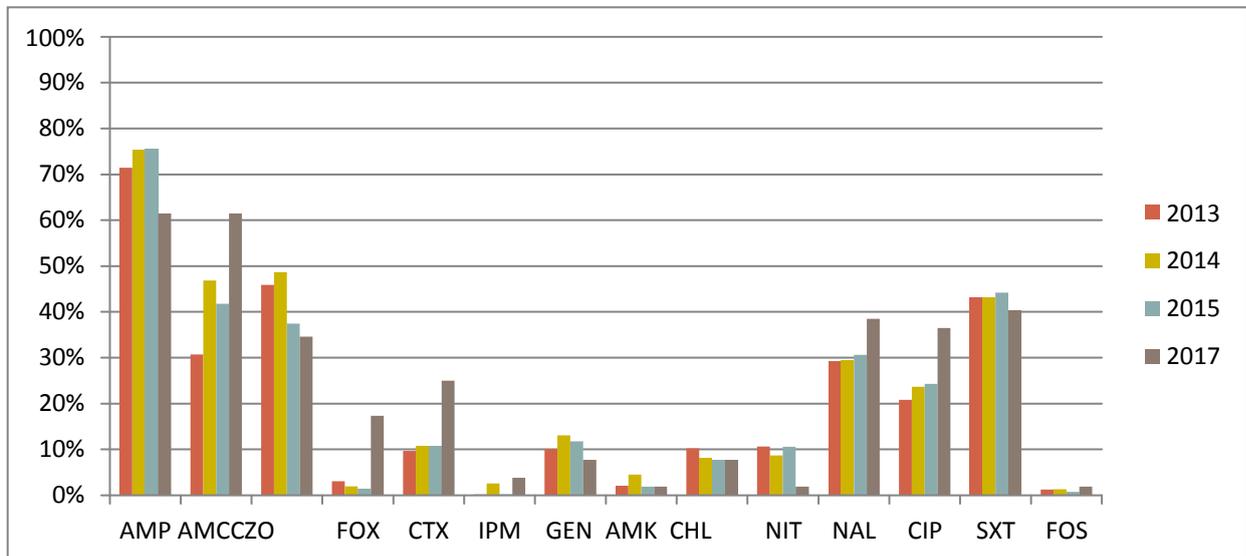


Figure 61 : Taux de résistance %R+I aux antibiotiques testés chez *E. coli* suivant les années [2012-2013, 2014, 2015, 2017]. [94-95-96]

Ces résistances soulignent la nécessité d'adapter les schémas thérapeutiques à l'épidémiologie locale et l'identification d'alternative thérapeutique.

d. La comparaison avec une autre bactérie indicatrice « Salmonella »

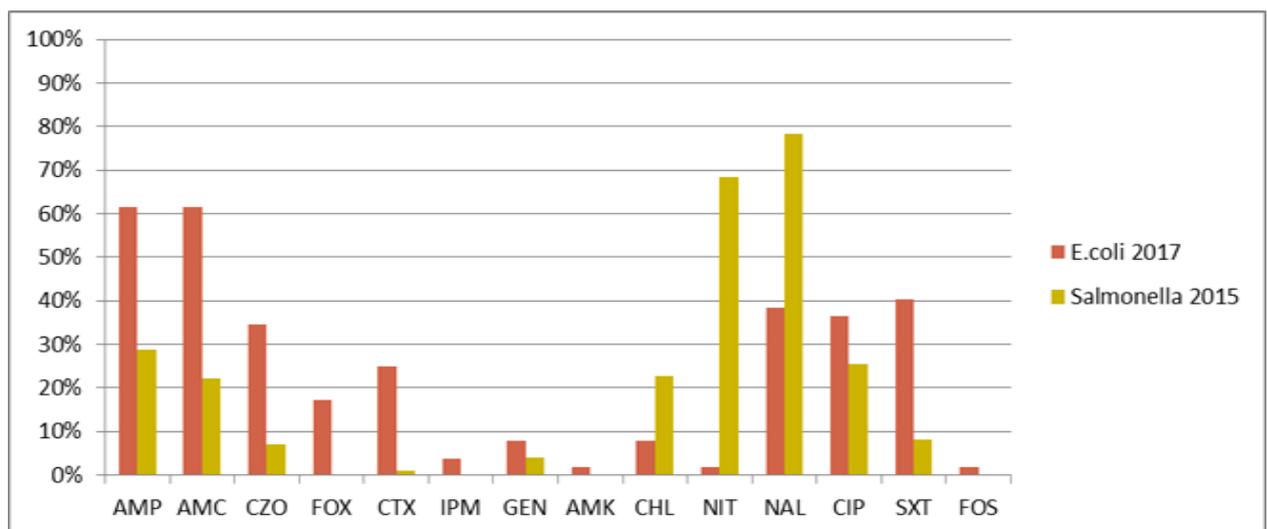


Figure 62 : Taux de résistance %R+I d'*E. coli* en 2017 et de *Salmonella* en 2015.

Les profils de résistances d'*E.coli* et salmonella se ressemblent donc on peut utiliser *E.coli* comme bactérie indicatrice pour surveiller la résistance aux antibiotiques des salmonelles. (L'isolement d' *E coli* est facile, c'est une bactérie non exigeante et très rencontrée par rapport à salmonelle qui est difficile à isoler).

e. La comparaison de taux de résistance %R+I d'*E.coli* entre le milieu communautaire et le milieu nosocomial

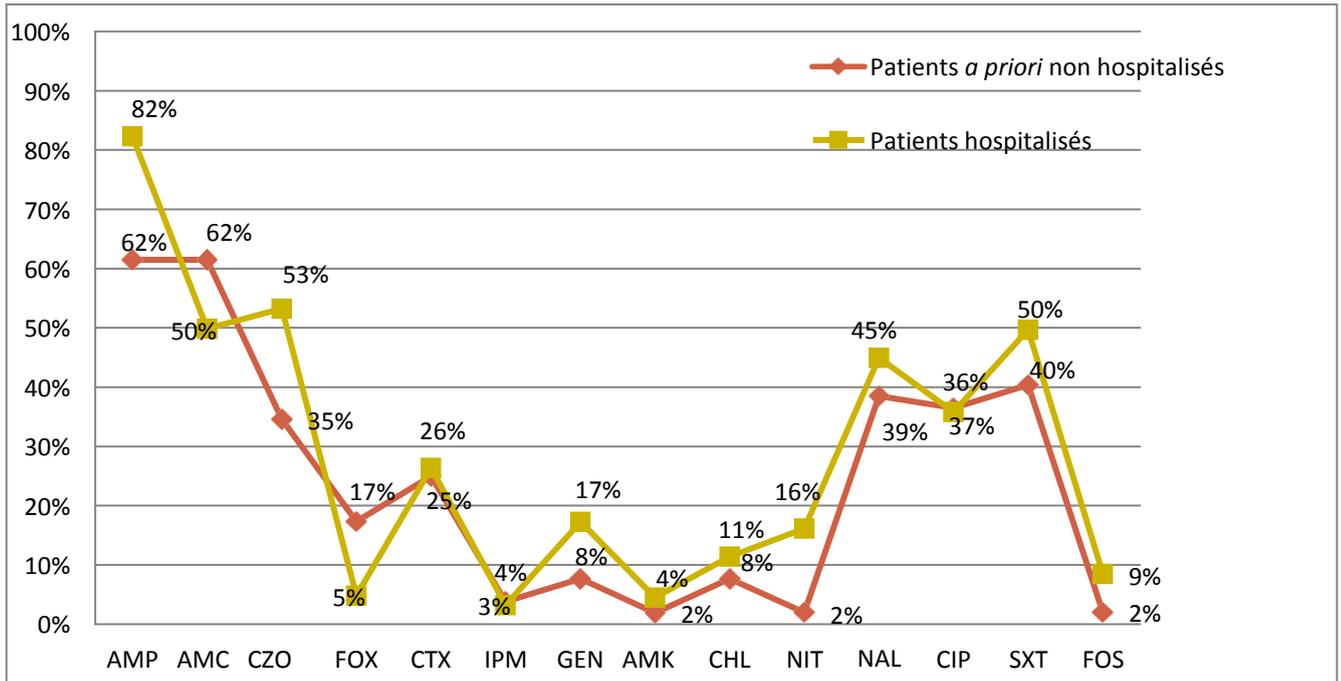


Figure 63 : Taux de résistance %R+I d'*E.coli* en milieu communautaire et en milieu nosocomial.

NB : les taux de résistance %R+I d'*E. coli* en milieu communautaire représente les résultats de notre étude 2017. Par contre les taux de résistance %R+I d'*E. coli* en en milieu nosocomial représente les résultats d'une autre étude faite n 2015. [94]

La résistance aux antibiotiques en milieu hospitalier bat tous les records, le milieu communautaire est resté relativement épargner par les bactéries multi résistantes (BMR).

Depuis l'avènement en pharmacie de ville d'antibiotiques à large spectre comme les céphalosporines de 3ème ou 4ème génération, les fluoroquinolones, ainsi que les aminosides ces derniers connaissent une consommation massive, seules ou fréquemment associées. Ceci n'est pas resté sans conséquence, à travers le monde, des rapports de cas d'infections communautaires graves à BMR ne cessent d'augmenter.

La surveillance de la sensibilité d'*E.coli* aux antibiotiques est nécessaire car elle représente un

marqueur de l'antibiorésistance aussi bien en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier.

2.2 *Enterococcus* spp (N=48)

a. Profil global de la résistance aux antibiotiques (N=48)

Tableau IV: Profil global de la résistance d'*Enterococcus* spp aux antibiotiques testés (N=48)

Nom de l'antibiotique	%R+I	%S
Ampicilline	14,6	85,4
Gentamicine (Haute)	0	100
Streptomycine (Haute)	12,5	87,5
Rifampicine	43,7	56,2
Ciprofloxacine	6,3	93,8
Lévofloxacine	8,3	91,7
Fosfomycine	0	100
Clindamycine	91,7	8,3
Erythromycine	41,7	58,3
Nitrofurantoïne	10,4	89,6
Vancomycine	14,6	85,4
Teicoplanine	31,3	68,8
Chloramphénicol	0	100
Pristinamycine	39,5	60,4

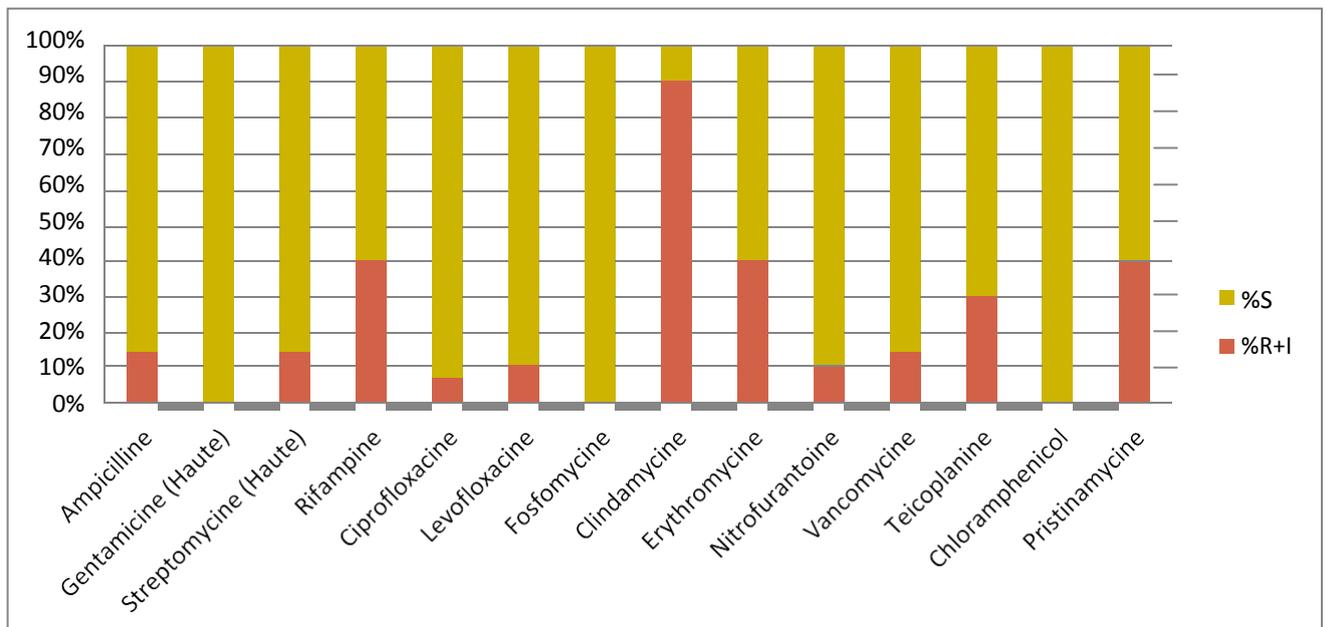


Figure 64 : Taux de résistance d'*Enterococcus* spp aux antibiotiques. (N=48)

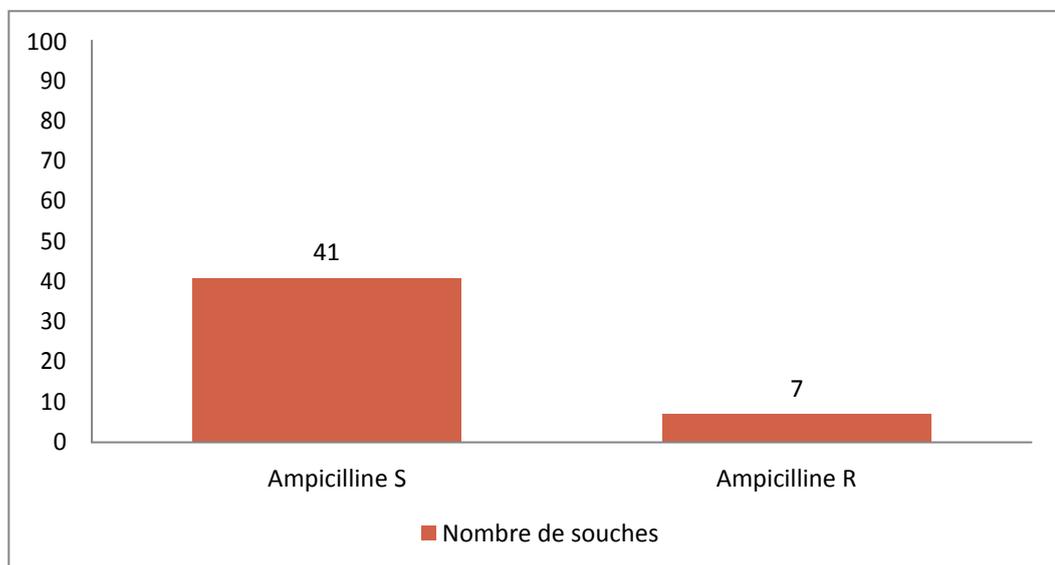
b. Etude des profils de résistance aux différentes familles d'antibiotiques**b.1 Les bêta-lactamines(N=48)**

Figure 65 : Phénotypes de résistance aux bêtas lactamines. N=48

- 41 souches présentent le phénotype sensible.
- 07 souches qui traduisent le phénotype résistant à l'ampicilline.



Figure 66 : Test de trèfle négatif= culture négative de l'ATCC *Staphylococcus aureus* 25923 autour de la strie de la souche d'*Enterococcus* spp testé.

- 13.46% des souches d'entérocoque résistantes aux bêta lactamines {dans notre cas, on a testé l'ampicilline}

Ça pourrait être dû à une résistance naturelle de bas niveau lié à une PLP de faible affinité pour les β -lactamines {résistance aux céphalosporines par exemple}. Ou aussi elle pourrait être traduite par une résistance acquise de haut niveau de l'entérocoque à l'ampicilline, ce qui est dû à une mutation au niveau de PLP5 surtout chez *E. faecium* par diminution d'affinité de cette PLP pour les β -lactamines : lié à l'hyperproduction de la PLP5 {résistance croisée à toutes les pénicillines} [87]. Cette bêta lactamase très proche de celle de *Staphylococcus aureus* et qui hydrolyse la pénicilline G, les aminocarboxy et uréidopénicillines est détectée par un test iodométrique ou acidimétrique [88]. A noter que ce plasmide code également pour le haut niveau de résistance à la gentamicine.

b.2 Les aminosides (N=48)

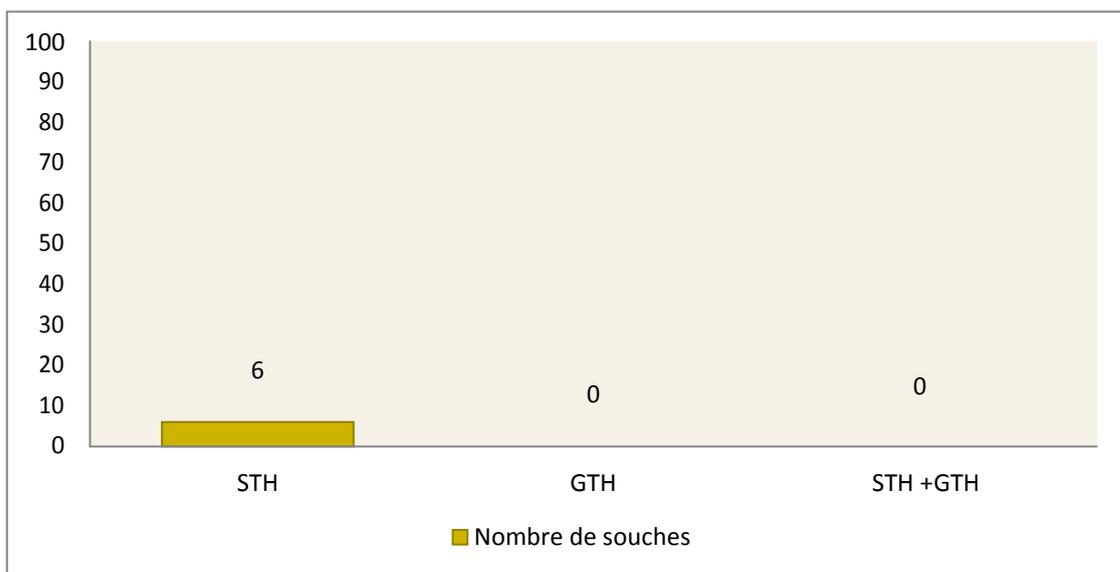


Figure 67 : Phénotypes de résistance aux aminosides N=48

-06 souches qui traduisent le phénotype résistant à la streptomycine à haut niveau.

Les aminosides agissent sur la synthèse protéique qu'ils inhibent au cours de la traduction en agissant au niveau de la sous-unité 30S des ribosomes ; ils sont généralement bactéricides.

Ce bas niveau de résistance permet cependant une action synergique dans le traitement

d'infections sévères à entérocoques avec la pénicilline ou les glycopeptides obtenue grâce à l'action préalable des bêta- lactamines ou des glycopeptides sur la paroi.[89]

Ça pourrait être dû à une anomalie de transport membranaire de ces antibiotiques.

Comme ça pourrait due aussi aux 3 mécanismes dont :

- Altération de la cible ribosomale.
- Modification du transport de l'antibiotique.
- Détoxification enzymatique de l'antibiotique.

Les entérocoques présentent un bas niveau de résistance aux aminosides dont le déterminisme ça pourrait s'expliquer par un mécanisme actif de transport défectueux lié à un défaut d'énergie oxydative au niveau de la paroi. [89]

b.3 Les glycopeptides (N=48)

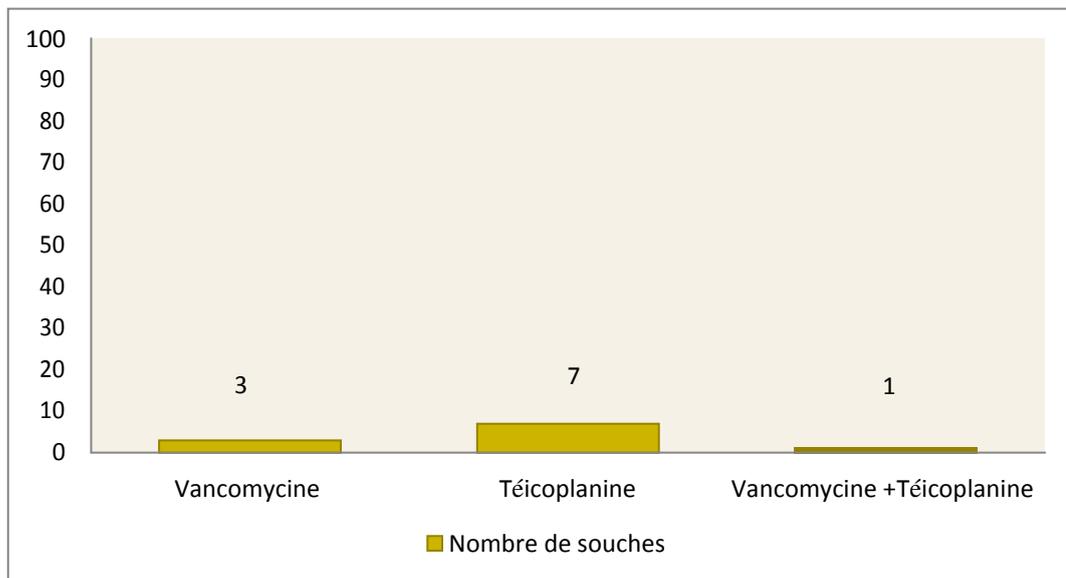


Figure 68: Phénotypes de résistance aux glycopeptides N=48

- 03 souches qui traduisent le phénotype résistant à la vancomycine.
- 07 souches qui traduisent le phénotype résistant à la téricoplanine.
- 01 seule souche qui traduit le phénotype résistant à la vancomycine + la téricoplanine.

Ça pourrait être une résistance par modification de la cible : remplacement du résidu D-ALA

– D-ALA par D-ALA – D-SER {vanC, vanE, vanG} ou D-ALA – D-Lac {vanA, vanB, vanD}.

Mais un autre genre autre qu'*Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* ; par exemple :

E.gallinarum, *E. casseliflavus*, *E. flavescens* : présence du gène van E: résistance de bas niveau à la vancomycine.

Cette résistance peut être mal diagnostiquée par les méthodes automatisées d'antibiogramme.

Pour vérifier l'identification d'espèce, on peut réaliser un test de mobilité : seules ces 3 espèces sont mobiles.

- VanA : d'origine plasmidique résistance de haut niveau à la vancomycine et à la téicoplanine.
- VanB : d'origine chromosomique résistance de niveau variable à la vancomycine.
- VanD : résistance de niveau moyen à la vancomycine et à la téicoplanine
- VanG, vanE : caractérisé par la résistance naturelle de bas niveau à vancomycine non transférable et probablement chromosomique associée à une sensibilité conservée à la téicoplanine. Observée chez *E. casseliflavus* et *E.gallinarum*.

Le mécanisme de la résistance est le même pour les types de résistance VAN A et VAN B qui sont inductibles. [89-90]

Le transfert d'un gène (vanA) peut s'observer des ERV aux MRSA. L'émergence de SA résistant aux glycopeptides représente une menace certaine. Ils peuvent en effet exposer à des échecs de traitement chez les patients pour qui l'arsenal thérapeutique est déjà limité.

Donc on pourrait utiliser l'entérocoque comme bactérie indicatrice pour surveiller la résistance de *S.aureus*

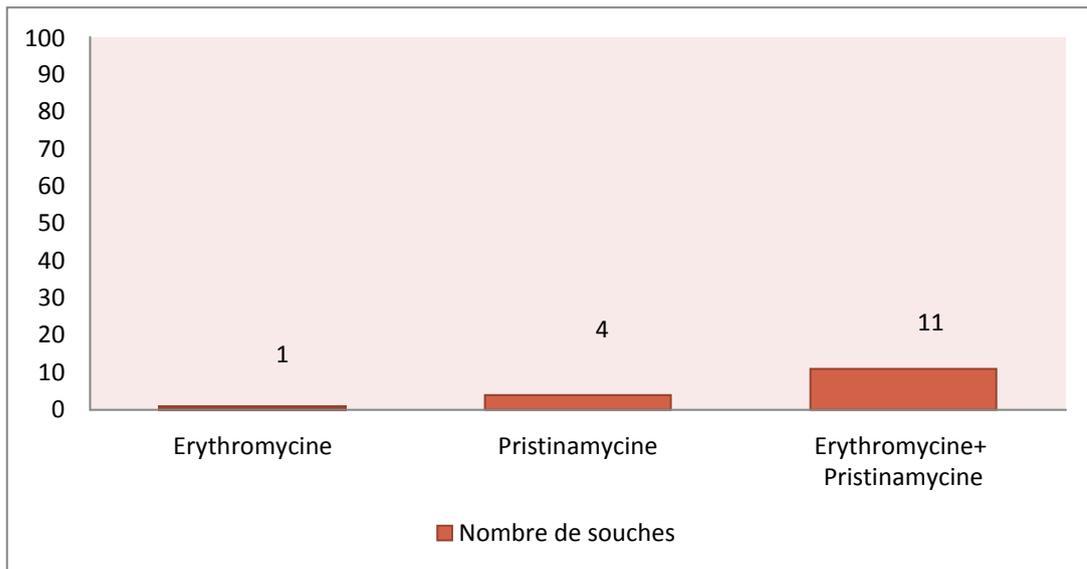
b.4 Les macrolides (N=48)

Figure 69 : Phénotypes de résistance aux macrolides (N=48)

-01 seule souche qui traduit le phénotype résistant à l'érythromycine.

-04 souches qui traduisent le phénotype résistant à la pristinamycine.

-11 souches qui traduisent le phénotype résistant à l'érythromycine et à la pristinamycine.

Deux mécanismes pourraient être impliqués dans la résistance de type MLS:

- Résistance par modification de la cible : Elle est le fait d'une méthylase codée par les gènes *ermA* ou *ermB*. Ces gènes présentent 100 % d'homologie avec les déterminants *erm* impliqués chez *S.aureus* et entraînent des phénotypes de résistance MLSB constitutif ou inductible. Par exemple : *E. faecalis* : résistance naturelle aux lincosamides et au composé A des streptogramines.

- Existence d'un mécanisme d'efflux : Deux déterminants sont impliqués chez les entérocoques : le gène *msrC*, le gène *mef*. [89]

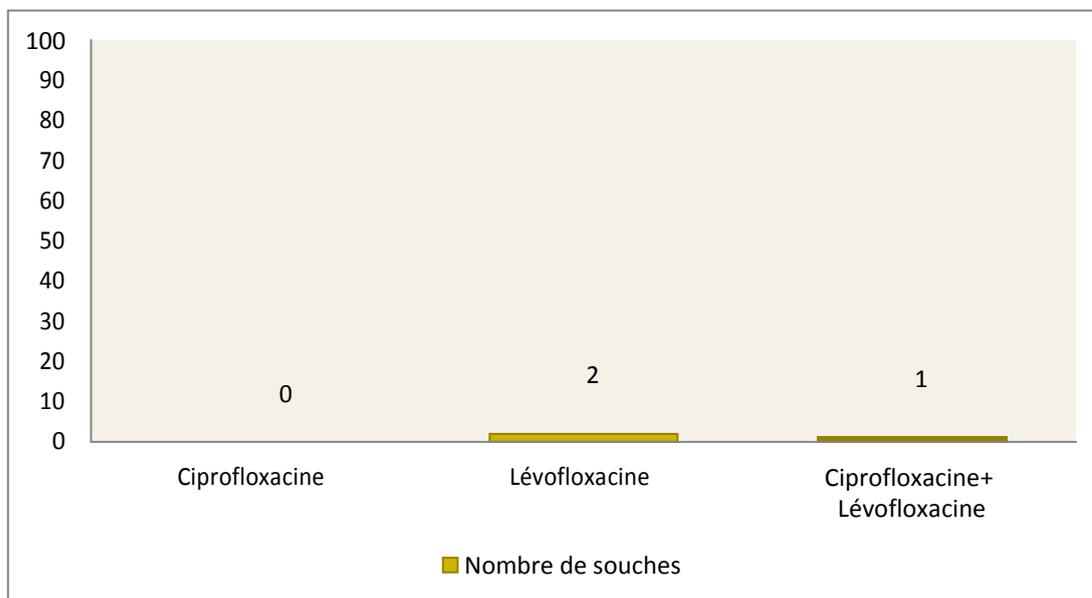
b.5 Les quinolones(N=48)

Figure 70 : Phénotypes de résistance aux quinolones (N=48)

- 02 souches présentent le phénotype résistant à la lévofloxacin.
- 01 seule souche présente le phénotype résistant à la ciprofloxacin et la lévofloxacin.

La résistance aux quinolones, généralement d'origine chromosomique se fait par modification de la cible (ADN gyrase) ou par diminution de la perméabilité.

b.6 Les Rifamycines(N=48)

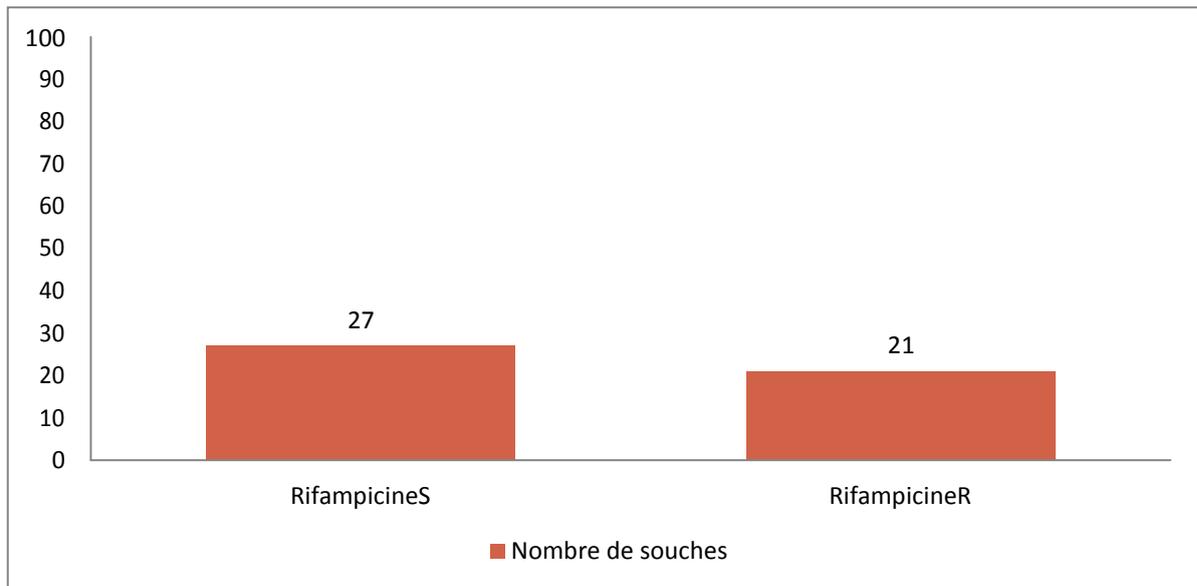


Figure 71 : Phénotypes de résistance à la rifampicine (N=48)

- 27 souches présentent le phénotype sensible.
- 21 souches présentent le phénotype résistant à la rifampicine.

Cette résistance des bactéries à la rifampicine ça pourrait être due à l'altération d'une sous unité de l'enzyme ARN polymérase ADN dépendante.

c. Evolution de la résistance chez *Enterococcus* spp en milieu communautaire (N=48)

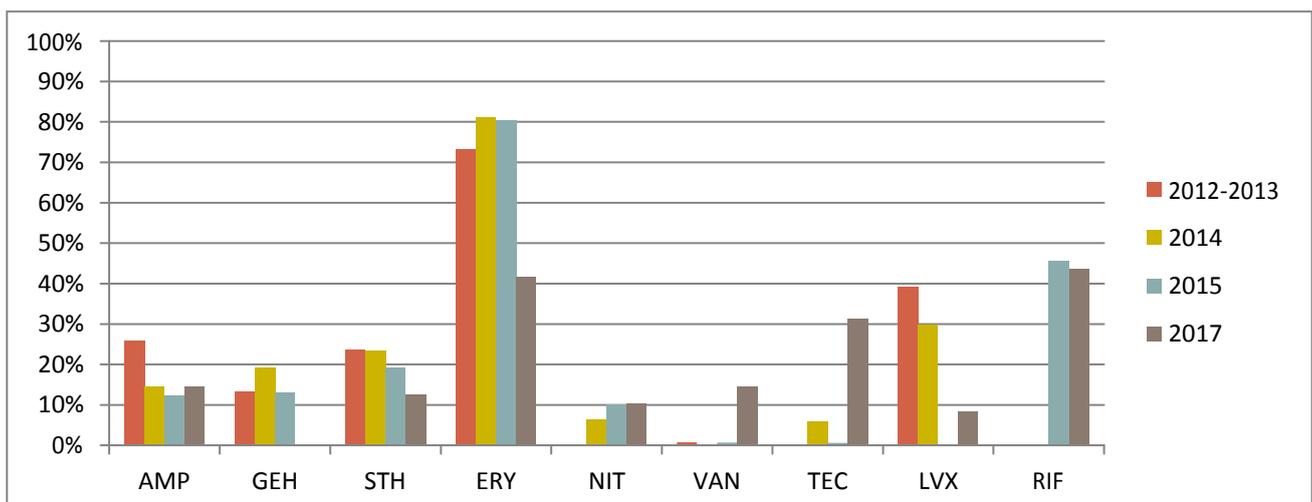


Figure 72 : Taux de résistance %R+I chez *Enterococcus* spp suivant les années. [2012-2013 ; 2014 ; 2015 ; 2017] [94-95-96]

d. La comparaison de taux de résistance %R+I d'*Enterococcus* spp entre le milieu communautaire et le milieu nosocomial

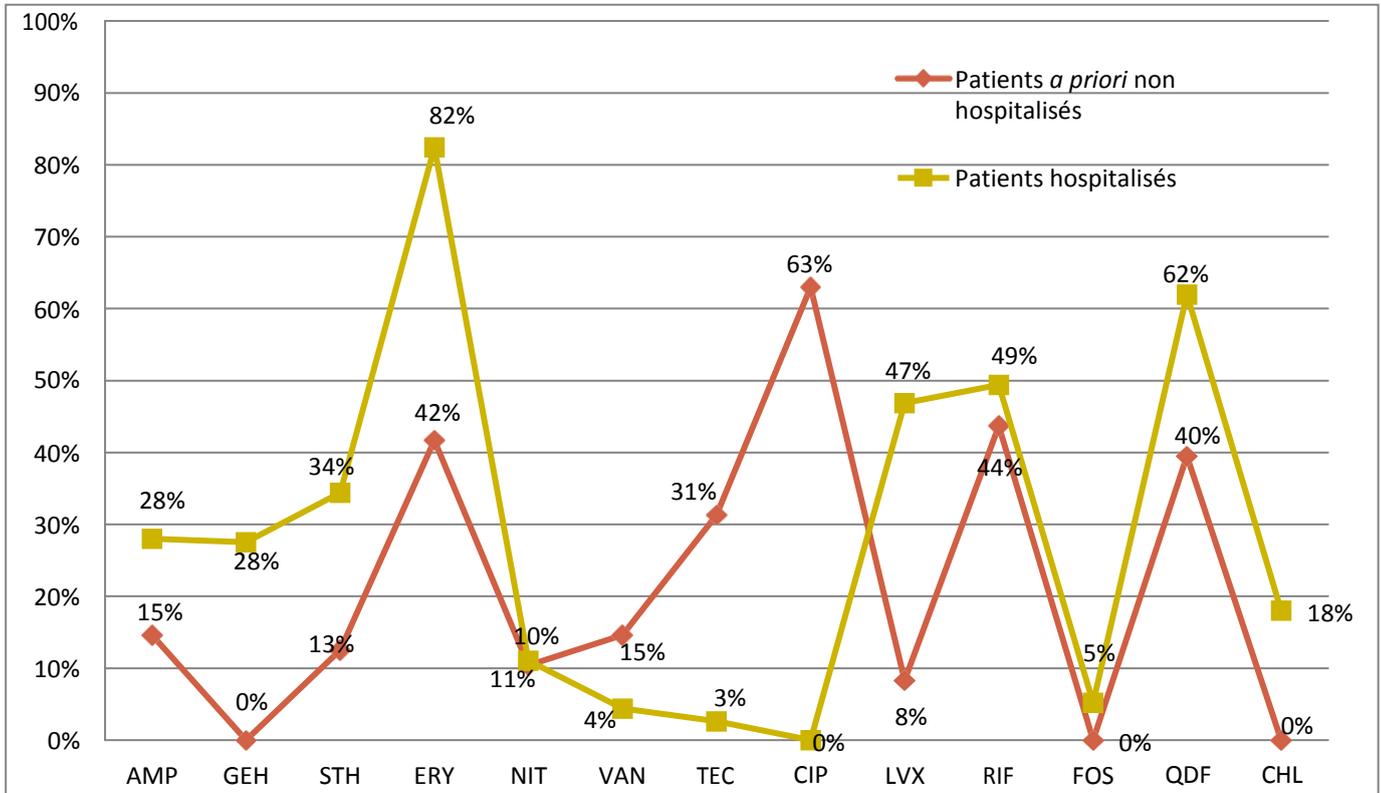


Figure 73 : Taux de résistance %R+I d'*Enterococcus* spp en milieu communautaire et en milieu nosocomial.

L'entérocoque occupe la troisième position parmi les germes responsables d'infections nosocomiales. Les entérocoques sont de plus en plus responsables d'infections nosocomiales et communautaires.

Les souches provenant de patients *a priori* non hospitalisés ont montré la plus grande sensibilité que celles provenant de patients hospitalisés ; cela pourrait s'expliquer par une plus grande pression de sélection de souches résistantes en milieu hospitalier imposée par la grande utilisation d'antibiotiques.

Limites de l'étude

-Manque d'information sur les taux de résistance en Algérie surtout au milieu communautaire (les pharmaciens n'ont plus envoyé de données depuis 2009 concernant la consommation des antibiotiques).

-Manque des disques d'antibiotiques, les milieux de cultures.

-Les stages pratiques durant l'année a limité la récolte d'information sur les patients et la récolte de prélèvements.

Recommandations

1- Organisation générale de la prescription des antibiotiques à l'hôpital:

Ces recommandations sont de nature à favoriser la qualité des prescriptions des antibiotiques.

- Les antibiotiques doivent faire l'objet d'une prescription nominative datée et signée lisiblement, mentionnant le nom du malade et la durée prévisionnelle d'administration, et transmise à la pharmacie.

- Différentes techniques permettent, surtout quand elles sont associées, d'améliorer le choix initial de l'antibiothérapie.

- La réévaluation entre la 24^{ème} heure et la 72^{ème} heure permet d'apprécier l'évolution clinique, d'obtenir les données microbiologiques, de s'assurer de la preuve ou non d'une infection et de sa nature bactérienne. Cette réévaluation est essentielle au bon usage, en particulier dans le cadre des antibiothérapies probabilistes.

- L'ordonnance de la 1^{ère} antibiothérapie probabiliste d'une infection a une durée limitée à 3-4 jours. La poursuite de l'antibiothérapie nécessite une réévaluation de l'état du patient et de son traitement antibiotique. La poursuite du traitement est soumise à l'avis d'un médecin sénior (médecin du service, infectiologue ou référent désigné).

- Une attention particulière doit être, en effet, portée à la durée utile de l'administration des antibiotiques. Différentes modalités sont envisageables : par exemple, des ordonnances à durée limitée peuvent être utilisées pour certaines indications (3 jours en situation probabiliste, 7 jours pour une indication documentée), ou pour certains antibiotiques (liste établie par la Commission du Médicaments et des Dispositifs Médicaux Stériles).

2- Modalités de prescriptions destinées à prévenir l'émergence de bactéries résistantes:

Les règles d'utilisation des antibiothérapies doivent permettre de limiter l'émergence de bactéries résistantes, non seulement dans le foyer initial mais aussi dans les flores commensales.

- Recommandations concernant l'antibiothérapie curative:

- Limiter l'antibiothérapie aux infections, dont l'origine bactérienne est documentée ou probable, et pour lesquelles d'autres mesures ne suffisent pas.
- Respecter des posologies et des modalités d'administration adaptées aux antibiotiques.
- Préférer pour les antibiotiques à efficacité comparable ceux dont le spectre est le plus étroit (hors patients neutropéniques).

- Dans les infections sévères, débiter le traitement le plus rapidement possible après l'hypothèse diagnostique et les prélèvements microbiologiques
- L'antibiothérapie curative ne dépasse généralement pas une semaine .Une antibiothérapie prolongée expose à un bénéfice/risque défavorable (résistances bactériennes augmentées, toxicité accrue).
- Envisager chaque fois que possible, en fonction des données cliniques, des données microbiologiques et de l'évaluation du malade, une désescalade thérapeutique voire un arrêt du traitement

- Recommandations relatives aux associations d'antibiotiques :

Une monothérapie antibiotique est suffisante dans la plupart des infections.

Le recours aux associations d'antibiotiques peut avoir pour but d'éviter l'émergence de bactéries résistantes dans le foyer infectieux en diminuant rapidement l'inoculum bactérien, mais il peut contribuer à augmenter la pression de sélection sur la flore commensale. En conséquence, les prescriptions d'associations doivent être strictement limitées, outre les infections à mycobactéries, à des situations bien définies

CONCLUSION :

La prévalence des bactéries multirésistantes au niveau communautaire est « alarmante ». Bien qu'il soit urgent de renouveler l'arsenal thérapeutique, nous devons être conscients que l'âge d'or de l'antibiothérapie est bel et bien terminé.

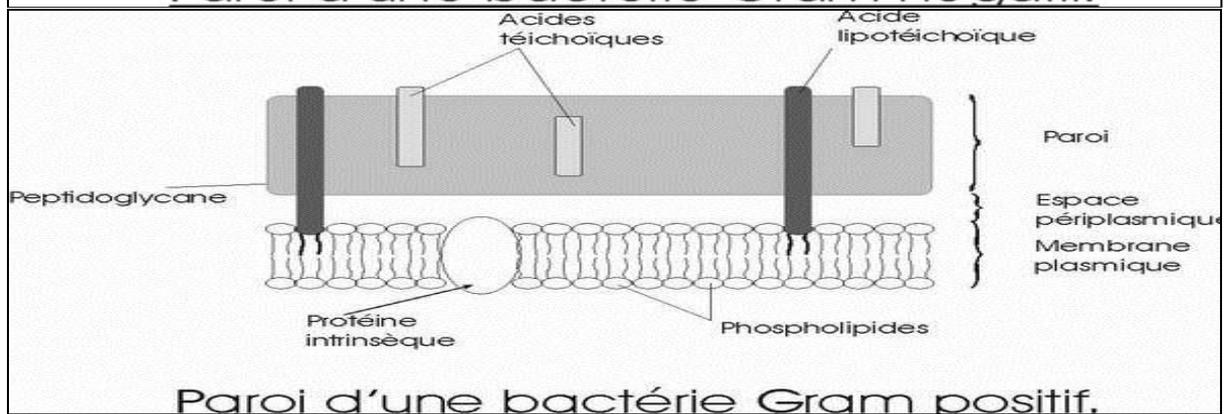
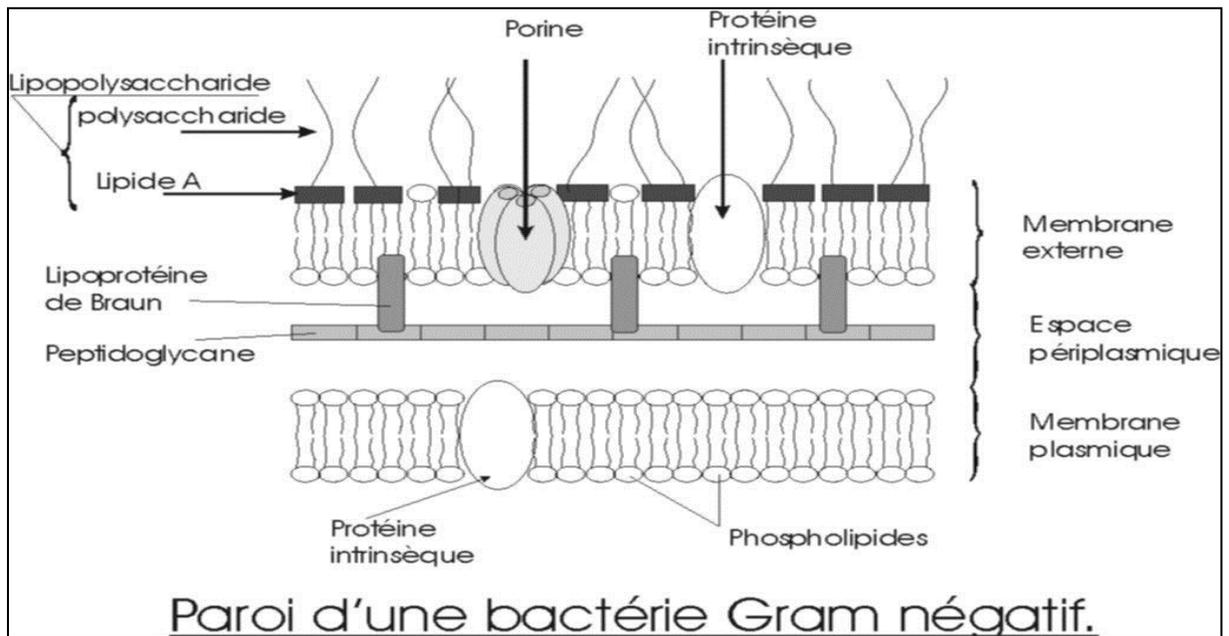
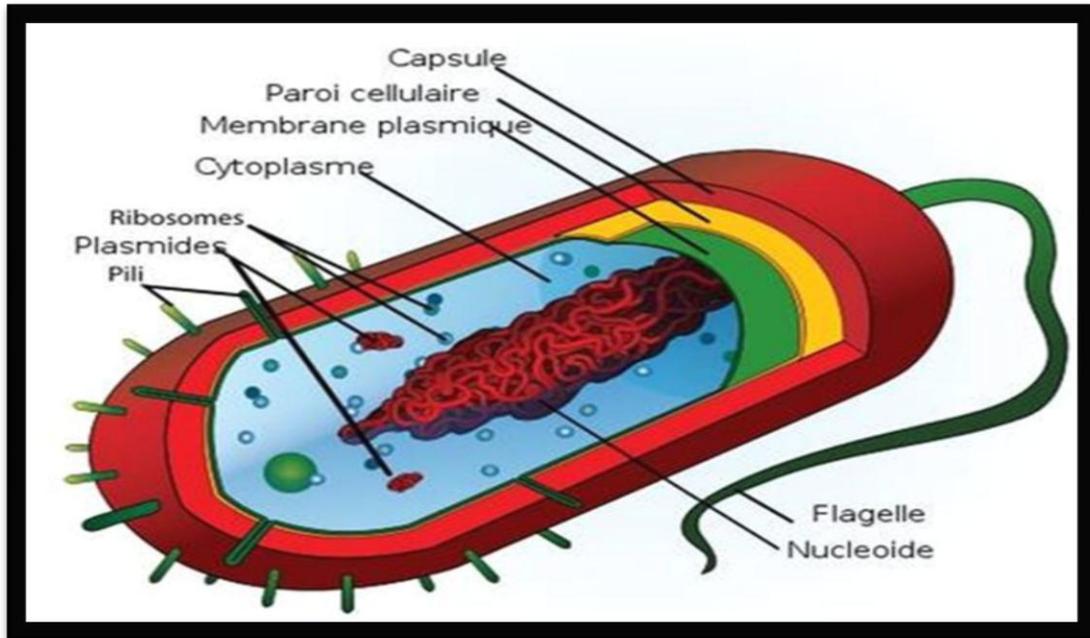
La situation est loin d'être satisfaisante. L'utilisation des antibiotiques en médecine humaine comme en médecine vétérinaire n'est pas encore irréprochable. Un certain nombre de prescriptions sont injustifiées ou ne correspondent pas aux recommandations, les tests de diagnostic rapide ne sont pas utilisés, les coopérations entre professionnels de santé restent anecdotiques.

Or, cette mauvaise utilisation des antibiotiques est lourde de conséquences en termes de santé publique. La problématique essentielle reste de trouver les solutions à proposer pour lutter contre la diffusion de la résistance aux antibiotiques. La lutte contre ces bactéries résistantes peut se faire par la prévention qui consiste entre autre, à comprendre leurs modes de transmission, à trouver les déterminants de la résistance, et par la suite développer et mettre en place des outils de détection et de surveillance en temps réel comme on nous l'avons montré dans la troisième partie la surveillance de la résistance des bactéries sentinelles parmi les méthode efficace et indispensable car elle apporte non seulement une aide évidente au choix thérapeutique (antibiothérapie curative ou prophylactique), mais aussi des informations précieuses pour l'épidémiologie et les stratégies de prévention.

Pour finir, on citera Louis Pasteur : « Au lieu de chercher à tuer les microbes, mieux vaut ne pas les introduire dans notre organisme ». Encore une fois de plus comprenons par là que prévenir vaut mieux que guérir.

ANNEXES

Annexe 1 : Rappel sur l'anatomie et la structure de la paroi bactérienne



Annexe 2 : Antibiotiques

1/Un antibiotique est une substance chimique produite par un microorganisme (le plus souvent un champignon) et capable de détruire (bactéricide) ou d'empêcher la croissance d'autres microorganismes (bactériostatique). Par extension, toute substance naturelles ou synthétique susceptible d'empêcher le développement des microorganismes est appelée antibiotique.

2/Les conditions d'action des antibiotiques :

Posséder une cible bactérienne spécifique, demeurer sous forme active, accéder à la cible, interagir efficacement avec la cible, en l'inactivant. Si une de ces conditions absentes : souche résistante

3/Critères de classification :

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

3.1 Origine: élaboré par un organisme ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)

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

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

3.4 Nature chimique: très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (exemple : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémisynthèse.

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines, macrolides (MLS) , phénicolés, quinolones et fluoroquinolones ,antibiotiques polypeptidiques (polymixines) , sulfamides et triméthoprime ,glycopeptides, produits nitrés, rifampicine, oxazolidinones et antibiotiques non classés).

4/Motivation d'une association:

- Augmenter le pouvoir bactéricide d'ATB -S'opposer à l'émergence de souches résistantes
- réduire l'effet dose-toxicité.

Lois de Jawetz et Gunnison :

ATB bactéricide+ ATB bactéricide=synergie (effet supérieur à l'effet des 2 ATB)

ATB bactériostatique+ ATB bactériostatique=association ou indifférence (somme des effets)

ATB bactéricide+ ATB bactériostatique=antagonisme (< à l'effet de l'ATB le plus actif)

5/Concentration minimale inhibitrice: CMI C'est la première concentration qui inhibe la croissance visible et qui correspond au début de la croissance invisible.

ANNEXES

Annexe 3 : WHONET 5.6

Le recueil des données de la résistance bactérienne aux antibiotiques était fait grâce à un logiciel : WHONET 5.6

WHONET est logiciel libre développé par le centre collaborateur OMS pour la surveillance de la résistance aux antimicrobiens, pour la surveillance des maladies infectieuses, et de la résistance microbienne au laboratoire.

Les principaux objectifs de logiciel sont

-d'améliorer l'utilisation locale des données de laboratoire.

-de promouvoir la collaboration nationale et internationale par l'échange de données.

Pour cela l'OMS a recommandé une standardisation des techniques de réalisation de l'antibiogramme, ces techniques sont préconisées par CLSI (Clinical Laboratory Standards Institut) et sont adapté par l'AARN.

Pour chaque résultat enregistré, on mentionne des informations concernant le patient, le service de provenance, le type de prélèvement, le microorganisme en cause ainsi que les valeurs obtenues dans l'antibiogramme.

The screenshot shows the WHONET 5.6 data entry interface. The form is divided into several sections: Origin (Human), Patient Information (Identification number, Last name, First name, Sex, Date of birth, Age, Age category), Location (Institution, Department, Location type), Specimen Information (Specimen number, Specimen date, Specimen type, Reason), Microbiology (Organism: Escherichia coli, Serotype, Beta-lactamase, ESBL, Carbapenemase, MRSA screening test, Inducible clindamycin, Antibiotic panel: Gram negative), and Other (Comment). On the right side, there are buttons for 'Save isolate', 'View database', 'BacTrack summary', 'Print', 'Exit', 'Caliper', and 'Clear'. Below these buttons is a search field and an 'Extended list' of organisms including Acinetobacter baumannii, Bacteroides fragilis, Burkholderia cepacia, Campylobacter coli, Campylobacter jejuni ss. jejuni, Candida albicans, Citrobacter freundii, Corynebacterium sp. (diphtheroids), Cytomegalovirus, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus avium, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Enterococcus sp., Epstein-Barr virus, Escherichia coli, Escherichia coli O157:H7, Haemophilus influenzae, Haemophilus influenzae (not type b), Haemophilus influenzae (type b), Hepatitis A virus, Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, Herpes simplex virus, Herpes simplex virus 1, Herpes simplex virus 2, Human herpesvirus, and Human papillomavirus.

Entrée des données dans le logiciel WHONET 5.6

Annexe 4 : Fiche de renseignement

Fiche de renseignement

NOM : Prénom :

Age : Profession :

Symptômes présents (nausées ; vomissement, diarrhée, etc) :

.....

.....

Maladies associées :

Prise d'antibiotiques : Nom d'antibiotiques :

.....

Durée du traitement :

Nombre d'hospitalisation :

Motif d'hospitalisation :

Notion de voyage :

Pays/wilaya visité : Durée de voyage ;

Annexe 5

Fiche technique 1 : Préparation du milieu chromagar et MH+oxacilline au laboratoire

Avant d'entamer la préparation ou la réalisation des tests on doit stériliser le matériel de microbiologie du laboratoire avec l'autoclave : le chauffage a lieu sous pression de vapeur d'eau, à une température de 100° à 130°C, pendant une durée qui varie en fonction du milieu, de la température utilisée et du volume des récipients. Le matériel à stériliser est déposé dans le panier métallique de l'autoclave dont on aura vérifié le niveau d'eau avant chaque opération de stérilisation.

1-milieu chromagar

- Peser 38g de poudre de chromagar.
- Prélever 1000ml d'eau distillée.
- Dissoudre la poudre dans l'eau distillée on la mettait au bain marie pendant 30min à 1h à 100°C.
- Couler la gélose chromagar dans les boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm.
- Les géloses sont séchées avant l'emploi.

2-MH+oxacilline

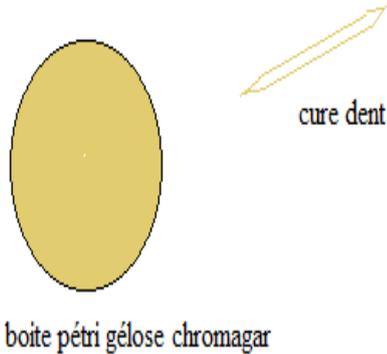
- Préparation de la solution oxacilline : 25mg d'oxacilline+ 10ml d'eau distillée.
- Pour une boîte de pétri de 90 mm :2ml de la solution oxacilline +18ml de MH.
- Mélanger avec un mouvement circulaire.
- Laisser refroidir.

Annexe 6

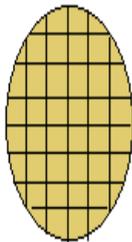
Fiche technique 2 : Isolement par la technique des stries et spots

Isolement en spot

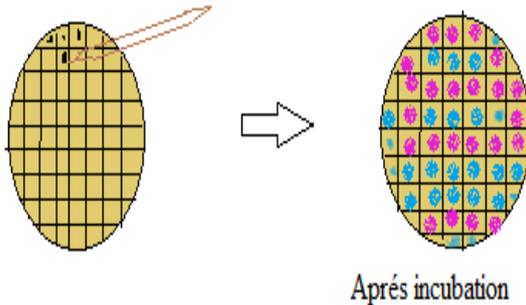
1. Matériel



2. Division de la boîte pétri:

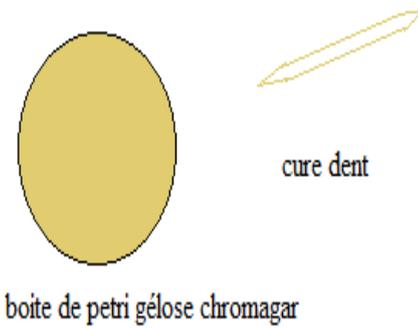


3. Prendre avec le cure dent plusieurs colonies et dans chaque carré déposer les colonies:

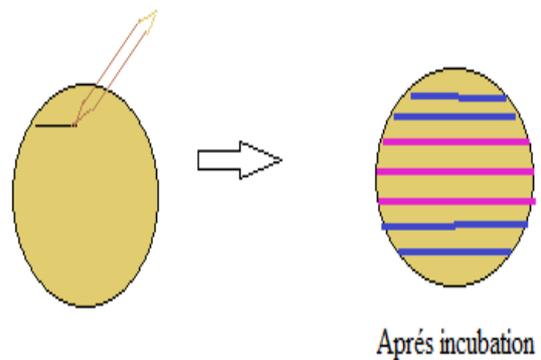


Isolement en stries

1. Matériel



2. Prendre avec le cure dent plusieurs colonies et isoler dans la boîte pétri avec des stries de l'extrémité gauche jusqu'à l'extrémité droite:



Annexe 7

Fiche technique 3 : Contrôle qualité

➤ Objectif

Le contrôle de qualité ou QC est un « auto contrôle », au cours duquel chaque microbiologiste doit contrôler toute technique de laboratoire qu'il pratique ; exemple l'antibiogramme.

Ce contrôle par ATCC a pour but d'assurer :

- La précision et la fiabilité de la technique des tests.
- La performance des réactifs utilisés dans les tests.
- La performance du personnel qui effectue les tests et la lecture.
- Le développement et l'évaluation de tests et de validation des techniques de recherche et de la préservation des ressources biologiques et la distribution de matériaux pour les secteurs public et privé de recherche.

Afin de répondre à cela, plusieurs souches de référence peuvent être utilisées :

E. coli ATCC 25922

E. coli ATCC 35218

P. aeruginosa ATCC 27853

S. aureus ATCC 25923

E. faecalis ATCC 29212

H. influenzae ATCC 49247

H. influenzae ATCC 49766

N. gonorrhoeae ATCC 49226

S. pneumoniae ATCC 49619

- ***L'American Type Culture Collection (ATCC)*** est une société privée américaine sans but lucratif, centre de ressources biologiques, dont la mission se concentre sur l'acquisition, l'authentification, la production, la conservation, le développement et la distribution de la norme de référence de micro-organismes, les lignées cellulaires et d'autres matériaux pour la recherche dans les sciences de la vie.

ANNEXES

L'ATCC est devenu le leader mondial dans la recherche et le développement d'expertise pour l'identification, la caractérisation, de conservation et de distribution d'une large gamme de cellules les lignes et les microbes.

Les normes ATCC biologiques sont vitales pour assurer la fiabilité des résultats de la recherche, de la reproductibilité de l'expérimentation et de la cohérence dans la méthode scientifique.

- **Souches de référence**

- Dès leur réception, les souches de références doivent être isolées sur milieu adéquat, une gélose nutritive ordinaire suffit pour les bactéries non exigeantes.
- A partir de cette culture faire 12 congélations.
- Chaque mois sortir un tube de congélation de chaque souche qui sera testée.
- Refaire 12 congélations pour l'année suivante à partir du 12ème tube de conservation.

Souche de référence	Mode de conservation	Observations
<i>E.coli</i> ATCC25922, <i>S.aureus</i> ATCC25923 et <i>P.aeruginosa</i> ATCC27853	- Lyophilisation - Congélation à – 70°C - Gélose profonde	-Conservation à long terme - Conservation à long terme - Repiquage régulier des souches
<i>S.pneumoniae</i> ATCC49619	Lyophilisation - Congélation	A défaut on peutensemencer une GSC inclinée, l'incuber 24h, puis la conserver à – 20°C. Cette technique permet de conserver le pneumocoque jusqu'à 6 mois.

Annexe 8

Fiche technique 4 : Réalisation de l'antibiogramme

➤ Objectif

Consiste à tester un panel d'antibiotiques vis à vis de la bactérie isolée. Il permettra ainsi de définir, pour chaque antibiotique, si la bactérie y est sensible (dans ce cas l'antibiotique est efficace sur le germe), intermédiaire (l'antibiotique n'est efficace que dans certaines conditions, à fortes doses) ou résistante (l'antibiotique est inefficace).

➤ Technique

Milieu : Mueller-Hinton simple est le milieu adéquat pour les bactéries étudiées.

Inoculum : 2 à 3 colonies bien isolées est prélevées et remise en suspension dans un tube de 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0.9% qui est ensuite vorté, son opacité doit être équivalente à 0.5MF ou à une D.O de 0.08 à 0.10 lue à 625nm.

Inoculation

-Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.

-L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.

-Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

-Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

-Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

-Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

Application des disques

Les disques d'antibiotiques ont été appliqués à l'aide d'un distributeur ou par une pince en appuyant légèrement ; puis incubés pendant 18-24h à 37°C ± 1°C. Les disques doivent être distants entre eux de 3 cm et de 1 cm du bord de la boîte.

➤ Lecture et interprétation

-Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

-Sur Mueller Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de pétri fermée.

-Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

-Classer la bactérie dans l'une des catégories sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I).

ANNEXES

N.B :Chez les entérobactéries, le disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC) est toujours placé à proximité d'un disque de céphalosporine troisième génération (céfotaxime ou ceftriaxone ou ceftazidime), Erythromycine placé à une distance de 25mm de pristinamycine et clindamycine dans le but de déceler, éventuellement, la production de la bêta lactamase à spectre élargi.

Tableau IV : La liste des antibiotiques testés

Entérobactéries	<i>Enterococcus spp</i>
Ampicilline* (10µg)	Ampicilline* (10µg)
Amoxicilline + Acide clavulanique (20/10µg)	Gentamicine (120µg)
Céfalotine**** (30µg)	Streptomycine (300µg)
Céfazoline (30µg)	Erythromycine (15µg)
Céfoxitine (30µg)	Furanes (300µg)
Céfotaxime** (30µg)	Tétracycline*** (30µg)
Imipénème (10µg)/ Méropénème (10µg)	Vancomycine (30µg)
Ertapénème (10µg)	Teicoplanine (30µg)
Amikacine (30µg)	Lévofoxacine (5µg)
Gentamicine (10µg)	Rifampicine (5µg)
Acide nalidixique (30µg)	Fosfomycine (200µg)
Ciprofloxacine (5µg)	Quinupristine -dalfopristine (15µg)
Chloramphénicol (30µg)	Chloramphénicol (30µg)
Furanes (300µg)	
Triméthoprime + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)	
Fosfomycine (200µg)	

* : réponse d'interprétation valable pour l'amoxicilline

** : réponse d'interprétation valable pour Ceftriaxone, Céfixime, Céfoperazone, Céfdirin et Céfopodoxime

*** : réponse d'interprétation valable pour tétracycline et doxycycline

**** : réponse d'interprétation valable pour céfalexine, céfclor.

Annexe 9

Fiche technique 5: Détection de la β -lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries

1-Test de synergie

➤ Objectif

Le test de synergie permet la détection de β -lactamases à spectre étendue chez une souche donnée. Ces enzymes peuvent être mises en évidence par la méthode des disques, qui consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de B-lactamase et les disques de céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, ceftazidime et céfepime) et l'aztréonam. Cette image dite en "bouchon de champagne".

➤ Technique

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline+acide clavulanique (AMC 20/10 μ g) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G (Céfotaxime : CTX 30 μ g ou Ceftriaxone : CRO 30 μ g), CAZ et ATM. 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 ceftazidime ...).

➤ Lecture et interprétation

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques :

- AMC et CTX
- AMC et CAZ
- AMC et ATM.

2-Test de confirmation ou technique du double disque (appelé aussi test espagnol)

➤ Objectif

La détection de la bêta lactamase à spectre élargie est confirmée par le test du double disque. Ce test plus sensible consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G.

➤ **Technique**

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

- Appliquer les disques d'antibiotiques :

Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) à une distance de 30mm (centre à centre).

-Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut.

-Après 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 ≥ 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

➤ **Contrôle de qualité**

Les mêmes techniques seront réalisées en parallèle pour la souche

- *E. coli* ATCC 25922 non productrice de BLSE.

3-Test à la Cloxacilline

➤ **Objectif**

Ce test est effectué pour identifier une BLSE associée à une céphalosporinase.

➤ **Technique**

- Procède de la même manière que la technique de l'antibiogramme sauf le milieu gélosé de Muller Hinton utilisé dans cette technique est mélangé avec une concentration de cloxacilline 0,25 mg/ml, pour cela il faut dissoudre 25 mg de cloxacilline dans 10ml d'eau distillée ; puis 2 ml de cette concentration est mélangé avec 18 ml du milieu Mueller-Hinton.

- Dépose sur la surface géloséeensemencée les disques antibiotiques (β -lactamines).

-Incuber 18 Heures à 35°C.

➤ **Lecture**

Le test à la cloxacilline est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de cloxacilline à celui réalisé sur MH sans cloxacilline.

➤ **Contrôle qualité**

Un contrôle de qualité sera réalisé avec la souche *E. coli* ATCC 25922.

Annexe 10

Fiche technique 6 : Recherche de β -lactamase (test de trèfle)

➤ Objectif

La recherche de la sécrétion d'une pénicillinase

➤ Technique

Matériel

Souche de référence : *S.aureus* ATCC 25923 sensible à la pénicilline

S.aureus ATCC 43300 résistant à la pénicilline

Souche à tester

Gélose MH

Disque de pénicilline G ou ampicilline

-Ensemencer une souche de *S.aureus* ATCC 25923 sur une gélose MH.

-Appliquer un disque ampicilline au centre de la boîte.

-Ensemencer en stries radiales (du centre de la boîte à la périphérie) la souche à tester, une souche témoin négatif (*S.aureus* ATCC 25923), une souche témoin positif (*S.aureus* ATCC 43300).

-Incuber la boîte 18h à 35°C en atmosphère normale.

➤ Lecture

La production de β -lactamase (pénicillinase) par la souche à étudier et la souche témoin positif induit la culture de la souche témoin négatif (sensible à la pénicilline) jusqu'au contact du disque d'ampicilline.

Annexe 11

Fiche technique 7 : Détermination de CMI par bandelettes E-test®

➤ Objectif

Permet de mesurer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique. Ce test est rapide, facile à réaliser, utile pour guider l'antibiothérapie en déterminant la sensibilité des germes aux antibiotiques, détectant les mécanismes de résistance, les synergies ou les antagonismes entre deux antibiotiques.

➤ Technique

-Inoculum : 00.5 Mc Farlandensemencé selon la technique décrite pour l'antibiogramme standard.

-Application des bandelettes :prélever à l'aide de pince bactériologiques stérile, le contact avec les pinces doit se faire au niveau de la partie marquée E, déposer la bandelette délicatement sur la surface gélosée, en commençant par l'extrémité correspondant aux concentrations les plus faibles de l'antibiotique testé puis en progressant jusqu'aux concentrations les plus élevées. Eviter la formation de bulles d'air. Une fois appliquée la bandelette ne peut être déplacée.

-Laisser la boîte couvercle en haut pendant 15 mn au plus.

➤ Lecture et interprétation

-La CMI de l'antibiotique testé est lue à l'œil nu, boîte ouverte est bien éclairée.

-Elle correspond à la graduation située à la jonction entre l'ellipse (dessinée par l'inhibition de la culture bactérienne) et la bandelette E-test®.

-Lire ensuite la CMI de la souche bactérienne testée.

-Comparer les résultats obtenus aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

-Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

➤ Contrôle qualité

Contrôler la qualité du test par la CMI de la souche de référence .Se référer au tableau de lecture fourni au niveau du prospectus E-test®.

Annexe 12

Fiche technique 8 : Détermination de la CMI par micro méthode (sur microplaquette)

➤ Objectif

La mesure de la CMI permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à un antibiotique.

➤ Technique

Milieu de culture : bouillon nutritif

Gamme de dilution d'antibiotique :

- Antibiotiques utilisés : céfotaxime, ceftazidime.
- Dissoudre 10,24 mg de poudre titrée d'antibiotique dans le volume adéquat du solvant correspondant, pour obtenir une solution mère à 1024 µg/ml.
- Répartir dans les cupules le bouillon nutritif, à raison de 25 µl par cupule en microplaquette à fond rond.
- Réaliser à partir de la solution mère, les dilutions semi-logarithmiques de raison 2 ; on obtient des concentrations intermédiaires allant de 512 µg/ml à 0,063 µg/ml.

Préparation de l'inoculum bactérien :

- Préparer à partir d'une culture pure de 48 heures, une suspension de la souche à étudier, dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile, d'une densité équivalente à 0,5 MF (10⁸ CFU/ml).
- Diluer la suspension d'opacité 0,5 MF au 1/10^{ème} pour distribuer un inoculum de 5.10⁵ CFU/ml de germe dans chaque cupule.
- Vérifier par ailleurs, la pureté de chaque souche en effectuant l'isolement sur gélose non sélective.

Distribution de l'inoculum bactérien :

- Elle doit se faire dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum.
- Inoculer les cupules de la microplaquette avec 5µl de suspension bactérienne par cupule.
- Pour chaque série, réaliser un témoin sans antibiotique (cupule).

Distribution du bouillon nutritif :

- Répartir 70µl dans les cupules; la concentration d'antibiotique obtenue va ainsi de 128 µg/ml à 0.016 µg/ml.

Incubation :

- Recouvrir la plaque d'un couvercle en plastique.
- Mettre à l'étuve 37°C pendant 18 h à 24h.

ANNEXES

➤ Lecture et interprétation:

- La CMI de chaque antibiotique correspond à la 1ere cupule CLAIRE (pas de culture par rapport au témoin sans antibiotique).
- Comparer la CMI lue, aux CMI critiques correspondantes à chaque antibiotique test (Table de lecture).
- Classifier les bactéries dans la catégorie R, I ou S selon le résultat.

➤ Contrôle qualité

Réalisé avec la souche *Escherichia coli* ATCC 25922

Tableau : Schéma du mode opératoire (CMI par technique de dilution en milieu liquide).

N° cupule	Volume de la solution d'antibiotique à rajouter	Concentration intermédiaire (µg /ml)	Volume bouillon nutritif	Inoculum	Concentration finale/cupule (vol final:1ml/ 100µl /cupule)
1	25 µl /cupule de la solution à 1024 µg/ml	512	70µl	5µl /cupule	128µg/ml
2	25 µl /cupule de la solution à 512 µg/ml	256	70µl	5µl /cupule	64µg/ml
3	25 µl /cupule de la solution à 256 µg/ml	128	70µl	5µl /cupule	32µg/ml
4	25 µl /cupule de la solution à 128 µg/ml	64	70µl	5µl /cupule	16µg/ml
5	25 µl /cupule de la solution à 64 µg/ml	32	70µl	5µl /cupule	8µg/ml
6	25 µl /cupule de la solution à 32 µg/ml	16	70µl	5µl /cupule	4µg/ml
7	25 µl /cupule de la solution à 16 µg/ml	8	70µl	5µl /cupule	2µg/ml
8	25 µl /cupule de la solution à 8 µg/ml	4	70µl	5µl /cupule	1µg/ml
9	25 µl /cupule de la solution à 4 µg/ml	2	70µl	5µl /cupule	0.5µg/ml
10	25 µl /cupule de la solution à 2 µg/ml	1	70µl	5µl /cupule	0.25µg/ml
11	25 µl /cupule de la solution à 1 µg/ml	0.5	70µl	5µl /cupule	0.125µg/ml
12	25 µl /cupule de la solution à 0.5 µg/ml	0.25	70µl	5µl /cupule	0.063µg/ml
13	25 µl /cupule de la solution à 0.25 µg/ml	0.125	70µl	5µl /cupule	0.032µg/ml
14	25 µl /cupule de la solution à 0.125 µg/ml	0.063	70µl	5µl /cupule	0.016µg/ml
T			70µl	5µl /cupule	

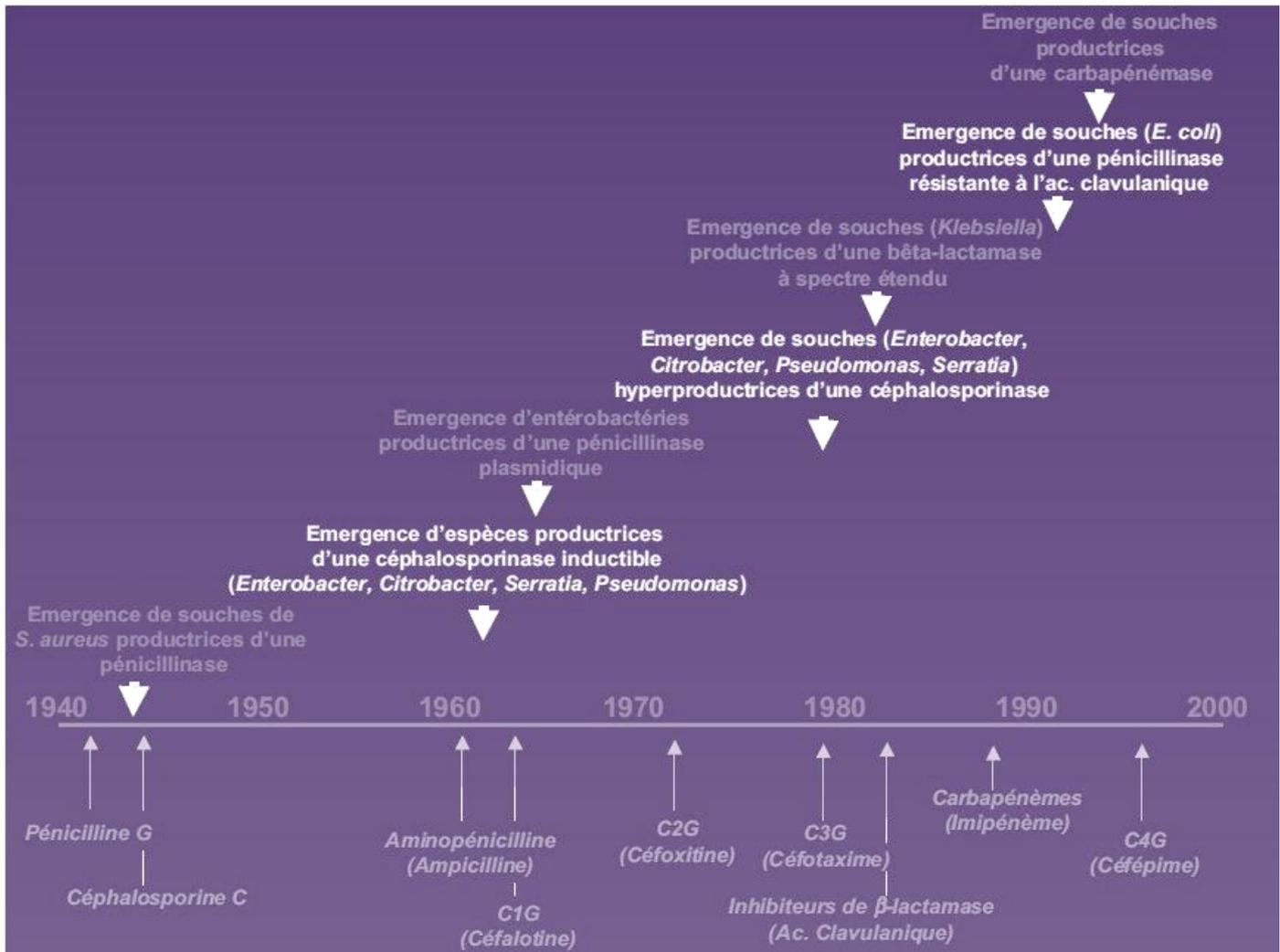
ANNEXES

Annexe 13 : Mécanismes de résistance majeurs des principales classes d'antibiotiques

Antibiotiques	Résistance chromosomique	Résistance extra-chromosomique
Aminoside	-Diminution de la perméabilité -Modification de la cible (protéine S12 sous unité 30S)	-Inactivation par acétyltransférase
Bêta lactamines	-Diminution de la perméabilité -Diminution de l'affinité des PLP -Diminution de la synthèse des PLP -Synthèse de nouvelles PLP, -Inactivation enzymatique par des céphalosporinases	-Inactivation par diverses β -lactamases ou carbapénémases
Bêta lactamines est inhibiteur des bêta lactamases	Inactivation par des céphalosporinases chromosomiques	Inactivation par bêta lactamases hyperproductrices et bêta lactamases résistantes aux inhibiteurs
glycopeptides		-Modification de la cible -Diminution de l'affinité, ERV ,6gènes de résistances identifiés (VanA, VanB, etc.)
Macrolides		Méthylation du ribosome bactérien (ARN 23S)
Chloramphénicol	Diminution de la perméabilité	-Efflux actif -Inactivation par acétyltransférase
Quinolones	-Modification de la cible ADN gyrase ou topoisomérase VI (gène gyrA, gyrB ou par C) par mutation spontanée -Diminution de la perméabilité	
Rifampicine	Modification de la cible (ARN polymérase ADN dépendante)	
Sulfamidés	Diminution de la perméabilité - Modification par mutation de la dihydroptéroate synthétase	Dihydroptéroate synthétase additionnelle sans affinité pour sulfamidés
Tétracyclines	Diminution de la perméabilité	Efflux actif spécifique
Triméthoprime	-Diminution de la perméabilité -Mutation de la dihydrofolate réductase	Dihydrofolate réductase additionnelle insensible au triméthoprime

Annexe 14

1-Histoire des bêta lactamases



2-Conseils concernant les indications et les modalités de prescription

La prescription d'un antibiotique repose sur :

- un diagnostic précis, reposant si possible sur les tests diagnostiques rapides, sinon traitement probabiliste en se référant à l'étiologie bactérienne la plus probable.
- les caractéristiques du patient : âge (extrêmes), poids en pédiatrie, fonction hépatique et rénale (clairance de la créatinine chez la personne âgée), fragilité (diabète, déficit immunitaire), grossesse et allaitement.
- un spectre de l'antibiotique le plus étroit possible.

✚ une durée de traitement la plus courte possible afin d'éviter la sélection de souches résistantes.

Il est préconisé de :

- privilégier la voie orale.
- éviter de prescrire le même antibiotique ou la même classe dans les 3 mois d'une précédente utilisation chez un même patient.
- respecter les posologies et les durées de traitement préconisées.
- évaluer de nouveau l'efficacité du traitement antibiotique sur les symptômes entre 48 et 72 heures après le début du traitement.

Préserver l'efficacité de certains antibiotiques

- Trois antibiotiques, particulièrement générateurs de résistances bactériennes, sont concernés:

- ✚ l'association amoxicilline-acide clavulanique.

- ✚ les céphalosporines, surtout en prise orale, notamment celles de C3G, dont la ceftriaxone qui a un effet marqué sur la flore digestive.

- ✚ les fluoroquinolones.

-Il n'y a pas lieu en général de prescrire l'association amoxicilline acide clavulanique en première intention. L'amoxicilline seule à dose adaptée est le plus souvent suffisante.

- Il n'y a pas lieu de banaliser la prescription de céphalosporines qui favorise l'émergence EBLSE. Leur prescription doit être modérée dans le respect de leurs indications.

- Il n'y a pas lieu de prescrire une fluoroquinolone dans les situations où d'autres antibiotiques peuvent être utilisés. Il est conseillé de ne pas réitérer une prescription de fluoroquinolone suivant une précédente utilisation de cette classe dans les 6 mois pour une infection urinaire ou les 3 mois pour une infection respiratoire.

Le lavage des mains - Comment ?

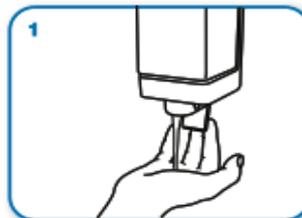
**LAVER LES MAINS AU SAVON ET A L'EAU LORSQU'ELLES SONT VISIBLEMENT SOUILLEES
SINON, UTILISER LA FRICTION HYDRO-ALCOOLIQUE POUR L'HYGIENE DES MAINS !**



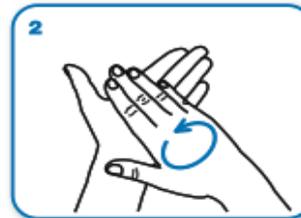
Durée de la procédure : **40-60 secondes**



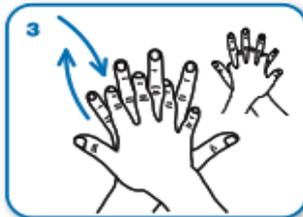
0 Mouiller les mains abondamment



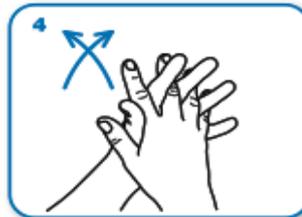
1 Appliquer suffisamment de savon pour recouvrir toutes les surfaces des mains et frictionner :



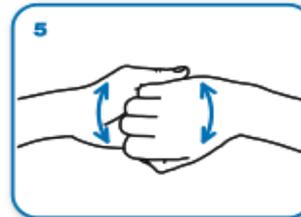
2 Paume contre paume par mouvement de rotation,



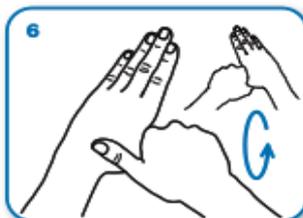
3 le dos de la main gauche avec un mouvement d'avant en arrière exercé par la paume droite, et vice et versa,



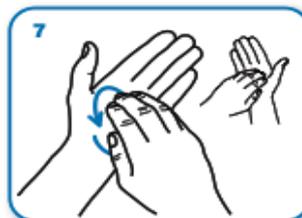
4 les espaces interdigitaux paume contre paume, doigts entrelacés, en exerçant un mouvement d'avant en arrière,



5 les dos des doigts en les tenant dans la paume des mains opposées avec un mouvement d'aller-retour latéral,



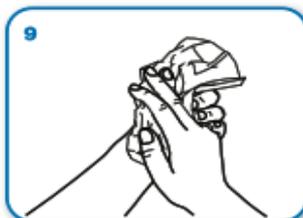
6 le pouce de la main gauche par rotation dans la paume refermée de la main droite, et vice et versa,



7 la pulpe des doigts de la main droite par rotation contre la paume de la main gauche, et vice et versa.



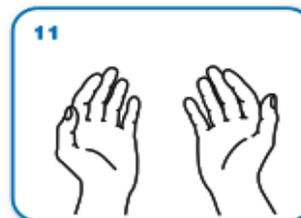
8 Rincer les mains à l'eau,



9 sécher soigneusement les mains avec une serviette à usage unique,



10 fermer le robinet à l'aide de la serviette.



11 Les mains sont prêtes pour le soin.

Annexe 17 : Technique de transfert génétique

La conjugaison effectuée en milieu solide.

- Cultiver les souches réceptrices et donatrices à 37 °C pendant 18h sur BHIB.
- Traiter chaque souche réceptrice à 60°C pendant 3 mn puis la mettre dans la glace pendant 2 mn.
- Mélanger les 2 suspensions (1 volume de la donatrice/2 volume de la réceptrice) et faire un dépôt de 100 µl du mélange dans une boîte de gélose MH.
- Laisser sécher puis incubé à 37°C pendant 18h.
- Racler la moitié de la culture mixte et la mettre en suspension dans 5ml de BHIB, et mettre dans l'étuve 1h à 37°C et ensemer dans les boîtes de sélection et incubé à 37°C pendant 18h.
- Analyser les transconjugants : purifier un minimum de clones puis étudier chaque clone par l'antibiogramme.

ANNEXES

Annexe 18 : Technique de recherche de gène blaCTX-M

Pour 25 µl de volume réactionnel :

- Préparer l'inoculum bactérien : 3 à 4 colonies dans 50 µl d'eau distillée stérile.
- Bien vortexer pour homogénéiser.
- Traiter à 100°C pendant 10min pour la lyse.
- Centrifuger à 12000 rpm pendant 2 min.
- Récupérer le surnageant.
- Mettre dans des microtubes 5µl de surnageant + 20µl de Mix.
- Mettre dans l'appareil à PCR pour l'amplification en appliquant le programme correspondant.

Milieu réactionnel

PCR MASTER Mix 2X : Mix utilisé à un volume de 25 µl et à une concentration finale de 1X.

- Up Stream primer 10µM : utilisé à un volume 0.5- 5 µl.
- Down Stream primer 10µM : utilisé à un volume 0.5-5 µl.
- ADN : utilisé à un volume de 1-5 µl.
- H₂O : 25µl qsp.

Les 2 amorces CTX-M utilisées sont CTX-M A (5' –CGCTTTGCGATGTGCAG-3') Et CTX-M B (5' –ACCGCGATATCGTTGGT-3') (Bonnet et al ,2001).

Conditions réactionnelles

Cette réaction PCR correspond à une succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes :

- Une première dénaturation à 94°C pendant 4 min.
 - Une dénaturation à 94°C pendant 30sec.
 - Une hybridation à 51 °C pendant 30sec
 - Une élongation à 72°C pendant 30sec
- } 35 cycles
- Une élongation finale à 72°C -74°C pendant 5 min
 - Arrêt de la réaction : à une température de 4°C

Les produits de l'amplification sont soumis à l'électrophorèse sur gel d'agarose à 1 %, sous une tension de 110 V pendant 1h30min.

Les références bibliographiques :

- [1] ⓘ: OMS | Le monde risque de sombrer dans une ère post-antibiotiques: le moment est venu de prendre des mesures énergiques [Internet]. WHO. [Cited 2016 Aug 31]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/commentaries/antibiotic-resistance/fr/>
- [2] ⓘ: Carlet J, Le Coz P. Tous ensemble, sauvons les antibiotiques [Internet]. [Cited 2016 Jul 5]. Available from: http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_antibiotiques.pdf
- [3] ⓘ: résistance aux antibiotiques OMS, octobre 2016
- [4] ⓘ: Jean-Luc Aboya MOROH Résistance bactérienne et phyto-molécules, antimicrobiennes issues de morinda morindoides. Thèse soutenue le 25 septembre 2013. Laboratoire universitaire de biodiversité et d'écologie microbienne (France)
- [5] ⓘ: Abraham E.P., Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. 1940. Rev Infect Dis 1988 Jul;10(4):677-8.
- [6] ⓘ: Résistance aux antibiotiques. -Aide-mémoire- Octobre 2016 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/fr/>
- [7] ⓘ: Communiqué de presse OMS 27 février 2017 GENEVE
- [8] ⓘ: Thierry Henon, Praticien hospitalier, Pole pharmacie, CHRV Besançon : Nouveaux médicaments : 10 novembre 2016
- [9] ⓘ: Les antibiotiques où en sommes-nous en 2017 ? Paul M. Tulkens IRSA
- [10] ⓘ: Un système de santé à la croisée des chemins, Doc de recherche, Gread 2006. OUFRIHA Fatima Zohra et collaborateurs.
- [11] ⓘ: Economie algérienne : enjeux et perspectives
Smaïl GOUMEZIANE, Intervention faite lors du séminaire du CIPA à Paris le 27 avril 2000.
- [12] ⓘ: Phuture 2014-15 Published on Nov 29, 2015 https://issuu.com/ipsf.org/docs/phuture_2014-15
- [13] ⓘ: Dr K. RISSO. Mécanismes d'actions des agents infectieux sur l'organisme humain. Service d'Infectiologie – CHU de Nice 2012.
- [14] ⓘ: Bertrand. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Disponible sur : <https://ent.univ-paris13.fr/.../UsOpc2lzdGFuY2VfYmFjdMOpcmlbm5lX2F1eF9hbnR...>
- [15] ⓘ: La génétique bactérienne. Disponible sur: http://univ.encyeducation.com/uploads/1/3/1/0/13102001/bacterio3an19-genetique_bacterienne.pdf
- [16] ⓘ: Dr BURUCOA.C. Mode d'acquisition des résistances par des micro-organismes. Laboratoire de Microbiologie à CHU Poitiers.
- [17] ⓘ: Résistance aux antibiotiques. Disponible sur le site : <http://anne.decoستر.free.fr/atb/resab.htm>.

- [18] ⓘ : Debiève .S. Bactéries: étapes de l'apparition des bactéries résistantes ,2012.
- [19] ⓘ : Al Abdani.S. Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie (thèse). Université Mohammed V-Rabat faculté de médecine et pharmacie, 2016.
- [20] ⓘ : Dr Solweig Gerbier-Colomban. Bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergentes BHRe. Unité d'hygiène et d'épidémiologie-groupement hospitalier nord SHEP/Infectiovigilance- HCL ,2016.
- [21] ⓘ : Seck rose. Résistance d'Escherichia coli et Klebsiella pneumoniae isolées d'infection urinaire (thèse). Université Cheikh Anta Diop de Dakar département de pharmacie, 2005.
- [22] ⓘ : Oreste Battisti .Eléments d'immunologie et de maladies infectieuses du nouveau-né et de l'enfant, 2013.
- [23] ⓘ : Antibiotique : mécanisme d'action et de résistance. Disponible sur le site : http://www.memobio.fr/html/bact/ba_an_atbp.html.
- [24] ⓘ : M. Archambaud. Les antibiotiques .Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse, Mars 2009.
- [25] ⓘ : J.L.Mainardi. Mécanismes de résistance aux antibiotiques/ Interprétation de l'antibiogramme. Unité Mobile de Microbiologie Clinique Hôpital Européen Georges Pompidou Université Paris V René Descartes Paris.
- [26] ⓘ : Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives, 2016. Disponible sur le site: <http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/md/c5md00344j#!divAbstrac>.
- [27] ⓘ : Consommation des antibiotiques en Europe Ville (ESAC) 2001. Publier par Adelle Lefeuvre .disponible sur : <http://slideplayer.fr/slide/508677/>.
- [28] ⓘ : Melle Skali.Z. Antibiothérapie des bactéries multirésistantes (thèse). Faculté de médecine et de pharmacie Rabat, 2016.
- [29] ⓘ : Lesens.O. Quelle place pour les macrolides en 2011. Maladies Infectieuses et Tropicale DU« Bien utiliser les antibiotiques en pratique clinique » CHU de Clermont-Ferrand.
- [30] ⓘ : Sonya Norris. La résistance aux antibiotiques. Division des sciences et technologies, 23/10/2008.
- [31] ⓘ : Centre didactique biotech ; Daria Süssbier @Interpharma. D'où viennent les résistances.
- [32] ⓘ : La résistance aux antibiotiques plus meurtrière que le cancer d'ici 2050.Disponible sur le site : https://www.lesechos.fr/21/05/2016/lesechos.fr/021945930667_la-resistance-aux-antibiotiques-plus-meurtriere-que-le-cancer-d-ici-2050.htm#j9EUXqGjeJU1tj8i.99.
- [33] ⓘ : Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Disponible sur le site : <https://www.ihc.com/products/clsi-standards.html>.

- [34] ⓘ : Janlou Chaput, Futura. Résistance aux antibiotiques : un diapason pour la détecter en 5 minutes, 2013.
- [35] ⓘ : Lucie MANGIN. Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Faculté de pharmacie Lorraine, 2016.
- [36] ⓘ : Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques .16ème Rapport d'évaluation (De janvier à décembre 2015) ; 2017.
- [37] ⓘ : Lanternier. Impact écologique et maîtrise de la prescription des antibiotiques. Service de Maladies Infectieuses et Tropicales Necker Enfants – Malades.
- [38] ⓘ : Pr. RABAUD Nancy. C. Recommandations pour la prise en charge des infections émergentes.12 Octobre 2013.
- [39] ⓘ : Le système canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens-rapport de 2016.
- [40] ⓘ : D.Descamps. Entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG),16/04/2009.
- [41] ⓘ : Dr S. Alfandari. 28ème Journée d'Actualités Médicales Arrageoise Samedi 25 janvier 2014Epidémiologie, résistance, pression de sélection. Infectiologue et hygiéniste Service de Réanimation et Maladies Infectieuses, CH Tourcoin, 2014.
- [42] ⓘ : Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques .15ème Rapport d'évaluation (De janvier à décembre 2014) ; 2016.
- [43] ⓘ : Les comités pharmaceutiques et thérapeutiques .Session 13. Résistance aux antimicrobiens. Publié par Carpentier .c. disponible sur le site : <http://slideplayer.fr/slide/458810/>
- [44] ⓘ : Système mondial de surveillance de la résistance aux antimicrobiens PDF. Organisation mondiale de la santé 2016.
- [45] ⓘ : Réseau algérien de surveillance de résistance des bactéries aux antibiotiques, 10/05/2017.
- [46] ⓘ : Pr J. Robert CS de l'ONERBA. Onerba Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques .Tunis 24 février 2015.
- [47] ⓘ : les réseaux de l'Onerba (chapitre I), France. Disponible sur le site : http://onerba.org/onerba/Rapports/Rapport-ONERBA-2004/onerba-rapport-2004-chapitres/p015-020_Chapter1.pdf.
- [48] ⓘ : Le système canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens-rapport 2016.
- [49] ⓘ : Lahlou Amine I. Ouazzani Touhami H. Baaj N. Karim A. Benazzouz M. Idrissi El kaitouni Y et al. Place du laboratoire de ville dans la surveillance des résistances bactériennes [en ligne]. Journal de Biologie Médicale. Avril 2012, n°1.
- [50] ⓘ : Presentation on theme: "Lecture 2 Microbial Indicators of Fecal and Other Types of Environmental Contamination ENVR 133 Mark D. Sobsey."— Presentation transcript.

- [51] ⓘ : Le problème de la résistance aux antibiotiques chez le porc.
- [52] ⓘ : Pourquoi on ferme des plages?<https://www.ottawariverkeeper.ca/fr/la-fermeture-des-plages/>
- [53] ⓘ : Presentation on theme: "3.2 Environnemental transmission of pathogens Where do the pathogens come from? How do pathogens in excreta contaminate the environment? Learning objective:"—
Presentation : <http://slideplayer.com/slide/8487273/>
- [54] ⓘ : Livre : Reduction of pathogens, Indicator Bacteria, and alternative indicators by wastewater treatment and reclamation processes 2004
- [55] ⓘ : Criteria for ideal indicators for pathogenic microorganisms in food :
<https://www.slideshare.net/nadasami2/criteria-for-ideal-indicators-for-pathogenic-microorganisms-in-food>.
- [56] ⓘ : Indicator Bacteria https://en.wikipedia.org/wiki/Indicator_bacteria
- [57] ⓘ : Revue des méthodes de détermination de sources de contamination fécale de l'eau :
https://www.irda.qc.ca/assets/documents/Publications/documents/blais-et-al-2015_rapport_revue_source_tracking.pdf
- [58] ⓘ : Système canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens – Rapport de 2016 :
<https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/publications/medicaments-et-produits-sante/systeme-canadien-surveillance-resistance-antimicrobiens-rapport-2016.html#a>
- [59] ⓘ : "ECOLE NATIONALE VETERINAIRE T O U L O U S E" : <http://slideplayer.fr/slide/503343/>
- [60] ⓘ : Succession of genetic events contributing to virulence in Shigella.
http://www.nature.com/nature/journal/v405/n6784/fig_tab/405299a0_F4.html
- [61] ⓘ : Molecular Pathogenesis of Shigella spp. Controlling Host Cell Signaling, Invasion, and Death by Type III Secretion
- [62] ⓘ : TRANSFORMATION-CONJUGAISON ET TRANSDUCTION
- [63] ⓘ : Horizontal Gene Transfer and the Genomics of Enterococcal Antibiotic Resistance.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2955785/>
- [64] ⓘ : Cécile, Thibert .Les pistes d'une médecine sans antibiotiques. Par Publié le 24/06/2016 à, (Le figaro.fr).
- [65] ⓘ : Adeline Louvigny. POUR PRÉSERVER L'EFFICACITÉ DES ANTIBIOTIQUES, L'EUROPE SE TOURNE VERS LA PHAGOTHÉRAPIE.
- [66] ⓘ : Disponible sur : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Bdellovibrio>.
- [67] ⓘ : Tristan Vey .Un champignon à la rescousse des antibiotiques de dernière génération, Publié le 02/07/2014.

- [68] ⓘ : Gomaa AA, Klumpe HE, Luo ML, Selle K, Barrangou R, Beisel CL. 2014. Programmable removal of bacterial strains by use of genome-targeting CRISPR-Cas systems. MBio 5(1):e00928-13. doi:10.1128/mBio.00928-13.
- [69] ⓘ : TACKLING DRUG-RESISTANT INFECTIONS GLOBALLY: FINAL REPORT AND RECOMMENDATIONS ; THE REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE , CHAIRED BY JIM O'NEILL, MAY 2016.
- [70] ⓘ : Aider à réduire la propagation des résistances aux antimicrobiens. Canada.ca 26/05/2016.
- [71] ⓘ : Trentesse.A. Maitrise de l'antibiorésistance : l'apport des professionnels de santé 02.12.16.
- [72] ⓘ : Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle notionnel (médecine humaine et vétérinaire). 6ième édition 2011.
- [73] ⓘ : ANTIBIOGRAMME. Sous la direction de Patrice COURVALIN et Roland LECLERCQ .3ieme édition.
- [74] ⓘ : NA WU, Bai Yi Chen, Su Fei Tian, and Yun Zhuo Chu The inoculum effect of antibiotics against CTX-M-extended-Spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*, 2014.
- [75] ⓘ : J.-D. Cavallo, R. Fabre, E. Garrabé. Quelle bêtalactamine utilisé comme marqueur de multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* ? Service de biologie médicale, hôpital d'instruction des armées Bégin (HIA Bégin), 69, avenue de Paris, 94163 Saint-Mandé cedex, France.
- [76] ⓘ : Prévalence des gènes de résistance plasmidique aux quinolones chez des entérobactéries communautaires isolées au Maroc
- [77] ⓘ : S. W. MacGowan, P. Sidhu, T. Aherne, D. Luke, A. E. Wood, M. C. Neligan, et E. McGovern, « Atrial myxoma: national incidence, diagnosis and surgical management », Ir. J. Med. Sci. , vol. 162, n o 6, p. 223 - 226, juin 1993.
- [78] ⓘ : M. H. Nicolas et F. Espinasse, « Evolution de la flore responsable des infections nosocomiales », Evolution et tendances, vol. Infection nosocomiale et résistance aux antibiotiques, Paris: Arnette, 1993, p. 13 - 28
- [79] ⓘ : P. Weber, « Etat actuel de la sensibilité à la ciprofloxacine des bactéries isolées en pratique de ville : résultats d'une enquête multicentrique », Médecine Mal. Infect. , vol. 23, n o 5, p. 342 - 347, mai 1993.
- [80] ⓘ : V. Jarlier, M.-H. Nicolas, G. Fournier, et A. Philippon, « Extended Broad-Spectrum -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer -Lactam Agents in Enterobacteriaceae: Hospital Prevalence and Susceptibility Patterns », Clin. Infect. Dis. , vol. 10, n o 4, p. 867 - 878, juill. 1988.
- [81] ⓘ : Ahmed Aimen Bentrok1 Adel Gouri2 Amina Yakhlef3 Amel Touaref4 Abderrahim Gueroudj1 Takieddine Bensouilah1 Résistance aux antibiotiques de souches isolées d'infections urinaires communautaires entre 2007 et 2011 à Guelma (Algérie)
- [82] ⓘ : 8 Journée Nationale d'Hygiène Hospitalière et de lutte contre les infections associées aux soins : L'EMERGENCE DES BACTERIES MULTIRESISTANTES EN MILIEU COMMUNAUTAIRE : LA

SANTE PUBLIQUE EN CRISE T. Djerboua*, I.Smail, F.Kechenit, N.Sakhri, M.Aouabdia Centre de diagnostic « Azur Médical » Bordj El Bahr. Alger

[83] ⓘ : jeudis de la SPLF 2015- http://splf.fr/category/jeudis-de-la-splf/jeudis_2015/

[84] ⓘ : E. G. Maria Anatoliotaki, « Antimicrobial resistance of urinary tract pathogens in children in Crete, Grèce. », Scand. J. Infect. Dis. , vol. 39, n o 8, p. 671 - 5, 2007.

[85] ⓘ : Détection de souches multirésistantes d'Escherichia coli d'origine aviaire dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer.

[86] ⓘ : Evaluation de l'antibiorésistance du genre Enterobacter aux antibiotiques.

[87] ⓘ : JARVIS W.R Resistance Increasing in Gram positive Bacteria. New ORLEANS, Sept 16 ; 1996 : 3-4

[88] ⓘ : JUPEAU-VESSIERES A.M., SCAVIZZI M.R. Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. EncycLMéd. Chîr. (Paris - FRANCE), Maladies Infectieuses, 8-006-0-10, 1994, 16p.

[89] ⓘ : *Enterococcus*spp. http://www.memobio.fr/html/bact/ba_an_encp.html.

[90] ⓘ : VANCOMYCINE RESISTANCE ET HAUT NIVEAU DE RESISTANCE AUX AMINOSIDES DE SOUCHES D'ENTEROCOQUES ISOLEES ADAKAR

[91] ⓘ : M. Amaoui, A. Alami, S. Mharzi, S. Bargach, and M. C. Ouaz- zani, Conduite pratique face aux différents types d'infections urinaires chez la femme enceinte, Espérancesmédicale, 10 (2003), 27–30.

[92] ⓘ : C. I. N. P. Zomahoun, Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactériesisolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier universitaire – Hubert Koutoukou Maga de Cotonou (A propos de 231 souches bactériennes), Thèse de pharmacie, Université e du Bénin, 2004

[93] ⓘ :Phénotypes de résistance des souches d'Escherichia coli responsables des infections urinaires communautaires

[94] ⓘ:Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques 16ème Rapport d'évaluation (De janvier à décembre 2015) AARN

[95] ⓘ: Rapport d'évaluation (Janvier à Décembre 2012-2013) AARN

[96] ⓘ : Rapport d'évaluation (2014) AARN

Résumé

De nombreux antibactériens ont été découverts ou synthétisés et pour chaque nouvelle classe développée, nous avons assisté par la suite à l'émergence de nouveaux mécanismes de résistance, entraînant la diffusion de bactéries pathogènes de plus en plus difficiles à traiter.

Dans une partie de ce travail nous avons parlé sur l'évolution des antibactériens et de la résistance au fil du temps, les facteurs qui favorisent l'émergence de cette résistance et nous avons étudiés le profil et mécanismes de résistance des bactéries indicatrices en milieu communautaire (*E.coli* et *Enterococcus* spp) : émergence de BLSE, ERG...

Dans l'autre partie nous avons montrés que ces bactéries indicatrices peuvent être une solution pour surveiller l'émergence de nouvelle résistance aux bactéries pathogènes qui sont difficile à isoler dans le milieu.

La surveillance de cette résistance est indispensable, surtout en milieu communautaire qui est négligé, car elle apporte non seulement une aide évidente au choix thérapeutique (antibiothérapie curative ou prophylactique), mais aussi des informations précieuses pour l'épidémiologie et les stratégies de prévention.

Mots clés : bactéries sentinelles, communautaire, résistance, antibactériens, surveillance.

Abstract

Many antibacterial have been discovered or synthesized and for each new class developed, we have subsequently witnessed the emergence of new resistance, causing the spread of pathogenic bacteria that are increasingly difficult to treat.

In a part of this work we spoke about the evolution of antibacterial and resistance to the son of time, the factors that favor the emergence of this resistance and we studied the profile and mechanisms of resistance of the indicator bacteria in community (*E. coli* and *Enterococcus* spp): emergence of ESBL, ERG...

In the other part we have shown that these indicator bacteria can be a solution to monitor the emergence of new resistance to pathogenic bacteria that are difficult to isolate in the medium.

Monitoring of this resistance is essential, especially in community that are neglected, as it not only provides clear support for therapeutic choice (curative or prophylactic antibiotherapy), but also valuable information for epidemiology and prevention strategies.

Keywords: bacteria indicator, community, resistance, antibacterial, monitoring.