

Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri  
Faculté de médecine  
TIZI OUZOU



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة مولود معمري  
كلية الطب  
تيزي وزو

ⵜⴰⵎⴰⵎⵎⵉⵔⵉⵜ ⵏ ⵉⵏⵙⵉⵎⵓⵏⵜ ⵏ ⵉⵏⵙⵉⵎⵓⵏⵜ ⵏ ⵉⵏⵙⵉⵎⵓⵏⵜ

Département de Pharmacie  
N° D'ORDRE : /DP/2018

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté et soutenu publiquement

Le : 20 juin 2018

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

Thème :

**Tests de sensibilité aux antibiotiques chez les cocci Gram positifs et tests complémentaires**

Réalisé par :

M<sup>elle</sup> KEBOUR Dyhia

M<sup>elle</sup> MELIANI Yasmine

Encadré par :

P<sup>r</sup> AZZAM Amina

D<sup>r</sup> BOUBRIT Fella

Composition du jury :

-D <sup>r</sup> IBOUKHOULAF Sabrina	MAHU	Faculté de Médecine UMMTO	Présidente du jury
- P <sup>r</sup> AZZAM Amina	MCB	Faculté de Médecine UMMTO	Promotrice
-D <sup>r</sup> BOUBRIT Fella	MAHU	Faculté de Médecine UMMTO	Co-promotrice
-D <sup>r</sup> CHENNAFI Yasmine	AHU	Faculté de Médecine UMMTO	Examinatrice
-D <sup>r</sup> BOUTALBI Celia	AHU	Faculté de Médecine UMMTO	Examinatrice

# REMERCIEMENTS

---

*Nous tenons tout d'abord à remercier grandement  
Pr A.Azzam qui nous a permis de bénéficier de son  
encadrement. Ses qualités professionnelles et sa rigueur sont  
pour nous des exemples à suivre.*

*Un grand merci pour notre copromotrice Dr F.Boubrit, pour  
sa disponibilité et ses précieux conseils.*

*Nos remerciements s'adressent également à Dr S.Iboukhoulaf,  
pour nous avoir fait l'honneur de présider notre jury de  
soutenance et à Dr C.Boutalbi et Dr Y.Chennafi pour avoir  
aimablement accepté d'examiner ce travail.*

*Merci à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la  
réalisation de ce mémoire.*

# DEDICACES

---

*A mes chers parents, à qui je dois tout.*

*Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de tous vos sacrifices, votre amour et votre dévouement.*

*Que Dieu, le tout puissant, vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie.*

*A mes sœurs Lynda et Melissa, mes frères Tarik et Rafik, à qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite.*

*Que Dieu, vous donne bonne santé et que l'amour et la fraternité nous unissent à jamais.*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

*Je vous aime.*



**DYHIA**

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

***A vous très chers parents,***

*Toi **Papa**, symbole du sacrifice, de la droiture et de la persévérance*

*Toi **Maman**, exemple du courage, de la patience et du travail perfectionné*

*Vous les êtres qui ont consacré leur vie entière à parfaire mon éducation, à me transmettre les principes de la vie et l'amour du travail avec un dévouement inégal. Je vous remercie d'avoir soutenu mes choix, d'avoir cru en moi et de m'avoir épaulé et encouragé à aller de l'avant.*

*Je vous remercie d'être toujours près à me donner sans compter et d'avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires qui m'ont permis de parvenir jusqu'ici. Vos prières et votre bénédiction ont guidé mes pas vers la réussite et aucune dédicace ne saurait être à la hauteur de vos mérites.*

***A mes adorables sœurs Lysa et Manel.** Que serait ma vie sans vous deux? Sans vos conseils, sans votre amitié que je n'échangerai pour rien au monde. Merci d'être cette lumière qui éclaire mes sombres moments. Je vous adore. Que le grand Dieu vous garde pour moi.*

*A l'homme de ma vie, **mon mari Mohamed.***

*Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entouré. Cher mari j'aimerais bien que tu trouve dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour.*

*Acceptez ce travail comme le témoignage de ma reconnaissance, ma gratitude et mon profond amour. J'espère que j'ai pu vous rendre fiers de moi.*

**YASMINE**



# SOMMAIRE

---

# SOMMAIRE

---

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

**Introduction** ..... 01

**Partie théorique**

## **Chapitre I : Les bactéries cocci Gram positif**

**1. Le staphylocoque** ..... 02

1.1. Historique ..... 02

1.2. Position taxonomique et classification ..... 02

1.3. Aspects microbiologiques ..... 02

1.4. Epidémiologie ..... 04

1.5. Aspects cliniques des infections staphylococciques ..... 05

**2. L'entérocoque** ..... 07

2.1. Position taxonomique et classification ..... 07

2.2. Aspects microbiologiques ..... 07

2.3. Epidémiologie ..... 09

2.4. Aspects cliniques des infections à entérocoques ..... 10

**3. Le pneumocoque** ..... 10

3.1. Position taxonomique et classification ..... 10

3.2. Aspects microbiologiques ..... 10

3.3. Epidémiologie ..... 12

3.4. Aspects cliniques des infections à pneumocoques ..... 13

## **Chapitre II : Profils de résistance des cocci Gram positif aux antibiotiques**

**I. Généralités sur les antibiotiques** ..... 14

# SOMMAIRE

---

1. Définition d'un antibiotique -----	14
2. Activité et mécanisme d'action -----	14
<b>II. Mécanismes généraux de la résistance aux antibiotiques -----</b>	<b>16</b>
1. La résistance naturelle ou intrinsèque -----	16
2. La résistance acquise -----	17
3. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques -----	17
<b>III. Résistance des cocci Gram positif aux antibiotiques -----</b>	<b>18</b>
<b>1. Le staphylocoque -----</b>	<b>18</b>
1.1. Résistances naturelles -----	18
1.2. Résistances acquises -----	19
1.2.1. $\beta$ -lactamines -----	19
1.2.2. Glycopeptides -----	20
1.2.3. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) -----	21
1.2.4. Aminocyclitol -----	21
1.2.5. Fluoroquinolones -----	22
<b>2. L'entérocoque -----</b>	<b>23</b>
2.1. Résistances naturelles -----	23
2.2. Résistances acquises -----	23
2.2.1. $\beta$ -lactamines -----	23
2.2.2. Glycopeptides -----	24
2.2.3. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) -----	25
2.2.4. Aminocyclitol -----	25
<b>3. Le pneumocoque -----</b>	<b>25</b>
3.1. Résistances naturelles -----	25
3.2. Résistances acquises -----	26
3.2.1. $\beta$ -lactamines -----	26
3.2.2. Glycopeptides -----	26
3.2.3. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) -----	27

# SOMMAIRE

---

3.2.4. Aminosides -----	27
3.2.5. Fluoroquinolones -----	28

## Partie pratique

### Matériels et méthodes

<b>I. Cadre de l'étude -----</b>	<b>29</b>
<b>II. Méthodologie -----</b>	<b>30</b>
<b>1. Analyse microbiologique-----</b>	<b>30</b>
1.1. Test de sensibilité aux antibiotiques-----	30
1.2. Tests complémentaires de sensibilité aux antibiotiques -----	31
<b>2. Analyse statistique -----</b>	<b>38</b>

### Résultats

<b>1. Origine des souches -----</b>	<b>39</b>
<b>2. Etude de la résistance aux antibiotiques -----</b>	<b>43</b>
2.1. Test de sensibilité aux ATB (antibiogramme) -----	43
2.2. Résistance du <i>Staphylococcus</i> spp à la méticilline -----	48
2.3. Résistance inductible à la clindamycine -----	49
2.4. Résistance par sécrétion de pénicillinase -----	50
2.5. Résistance aux glycopeptides -----	52
2.6. Sensibilité diminuée aux $\beta$ -lactamines chez <i>S.pneumoniae</i> -----	55

<b>Discussion-----</b>	<b>56</b>
------------------------	-----------

<b>Conclusion-----</b>	<b>59</b>
------------------------	-----------

### Annexes

### Références bibliographiques

## LISTE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau I</b> : Enzymes inactivatrices des aminosides et phénotypes de résistance .....	22
<b>Tableau II</b> : Critères d'interprétation du test à la céfoxitine pour <i>Staphylococcus</i> spp .....	31
<b>Tableau III</b> : Concentrations critiques des glycopeptides recommandées par le CLSI 2014 pour les staphylocoques .....	34
<b>Tableau IV</b> : Concentrations critiques des glycopeptides recommandées par le CLSI 2014 pour les entérocoques .....	36
<b>Tableau V</b> : Diamètres critiques de l'oxacilline recommandés pour la recherche de <i>S.pneumoniae</i> de sensibilité diminuée aux $\beta$ - lactamines .....	37
<b>Tableau VI</b> : Valeurs critiques des CMI des $\beta$ - lactamines recommandées par le CLSI 2014 pour les pneumocoques .....	38
<b>Tableau VII</b> : Répartition des isolats de staphylocoque selon le type de prélèvement .....	39
<b>Tableau VIII</b> : Répartition des isolats d'entérocoque selon le type de prélèvement.....	40
<b>Tableau IX</b> : Répartition des isolats de staphylocoque par secteurs de soins.....	41
<b>Tableau X</b> : Répartition des isolats d'entérocoque par secteurs de soins .....	42
<b>Tableau XI</b> : Profil de résistance des <i>S.aureus</i> isolés au CHU de Tizi-Ouzou du 01/12/2017 au 31/03/2018.....	43
<b>Tableau XII</b> : Profil de résistance des SCN isolés au CHU de Tizi-Ouzou du 01/12/2017 au 31/03/2018.....	45
<b>Tableau XIII</b> : Profil de résistance des souches d' <i>Enterococcus</i> spp isolées au CHU de Tizi-Ouzou du 01/12/2017 au 31/03/2018 .....	47
<b>Tableau XIV</b> : Fréquence de la résistance à la méticilline chez les staphylocoques .....	48
<b>Tableau XV</b> : Fréquence de la résistance inductible à la clindamycine chez les staphylocoques .....	49

## LISTE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau XVI</b> : Fréquence de la production des pénicillinases chez les staphylocoques .....	50
<b>Tableau XVII</b> : Fréquence de la production des pénicillinases chez <i>Enterococcus</i> spp .....	51
<b>Tableau XVIII</b> : Distribution des CMI de la vancomycine pour <i>S.aureus</i> .....	52
<b>Tableau XIX</b> : Distribution des CMI de la vancomycine pour les SCN .....	53
<b>Tableau XX</b> : Distribution des CMI de la vancomycine pour <i>Enterococcus</i> spp.....	54

## LISTE DES FIGURES

---

<b>Figure 1</b> : Aspect des staphylocoques après coloration de Gram.....	02
<b>Figure 2</b> : Culture de <i>S.aureus</i> sur gélose Chapman .....	03
<b>Figure 3</b> : Aspect des entérocoques après coloration de Gram .....	08
<b>Figure 4</b> : Colonies d' <i>E.faecalis</i> sur gélose au sang .....	08
<b>Figure 5</b> : Aspect du pneumocoque après coloration de Gram.....	10
<b>Figure 6</b> : Colonies de <i>S.pneumoniae</i> sur gélose au sang frais .....	11
<b>Figure 7</b> : Résumé des différents modes d'actions des antibiotiques.....	16
<b>Figure 8</b> : Mécanismes de résistance de la bactérie à l'antibiotique .....	18
<b>Figure 9</b> : Souche de <i>S.aureus</i> sensible à la méticilline.....	31
<b>Figure 10</b> : Souche de <i>S.aureus</i> présentant une résistance inductible à la clindamycine.....	32
<b>Figure 11</b> : Souche de <i>Staphylococcus</i> spp productrice de pénicillinases .....	33
<b>Figure 12</b> : Souche de <i>Staphylococcus</i> spp non productrice de pénicillinases .....	33
<b>Figure 13</b> : boîte de CMI à 0,125 µg/ml de vancomycine avec cultures apparentes au niveau des spots .....	36
<b>Figure 14</b> : Répartition des isolats de staphylocoque selon le type de prélèvement.....	39
<b>Figure 15</b> : Répartition des isolats d'entérocoque selon le type de prélèvement .....	40
<b>Figure 16</b> : Répartition des isolats de staphylocoque par secteurs de soins.....	41
<b>Figure 17</b> : Répartition des isolats d'entérocoque par secteurs de soins.....	42
<b>Figure 18</b> : Profil de résistance des <i>S.aureus</i> isolés au CHU de Tizi-Ouzou du 01/12/2017 au 31/03/2018.....	44
<b>Figure 19</b> : Profil de résistance des SCN isolés au CHU de Tizi-Ouzou du 01/12/2017 au 31/03/2018.....	46
<b>Figure 20</b> : Profil de résistance des souches d' <i>Enterococcus</i> spp isolées au CHU de Tizi-Ouzou du 01/12/2017 au 31/03/2018 .....	47
<b>Figure 21</b> : Fréquence de la résistance à la méticilline chez les staphylocoques .....	48

## LISTE DES FIGURES

---

<b>Figure 22</b> : Fréquence de la résistance inductible à la clindamycine chez les staphylocoques .....	49
<b>Figure 23</b> : Fréquence de la production des pénicillinases chez les staphylocoques .....	50
<b>Figure 24</b> : Fréquence de la production des pénicillinases chez <i>Enterococcus</i> spp.....	51
<b>Figure 25</b> : Distribution des CMI de la vancomycine pour <i>S.aureus</i> .....	52
<b>Figure 26</b> : Distribution des CMI de la vancomycine pour les SCN .....	53
<b>Figure 27</b> : Distribution des CMI de la vancomycine pour <i>Enterococcus</i> spp .....	54

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

**AARN:** Algerian Antimicrobial Resistance Network

**ADN:** Acide Désoxyribonucléique

**ARN :** Acide Ribonucléique

**ARNm :** Acide Ribonucléique messenger

**ATB :** Antibiotique

**ATCC :** American Type Culture Collection

**BHI agar :** Brain Heart Infusion agar (milieu cœur- cervelle)

**BMR :** Bactéries Multi-Résistantes

**BORSA :** Borderline Oxacillin-Resistant *S.aureus*

**CA-SFM :** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CFU :** Colony-Forming Unit

**CLSI :** Clinical and Laboratory Standards Institute

**CMI :** Concentration Minimale Inhibitrice

**D-Ala :** D-Alanine

**EBLSE :** Entérobactéries productrices de  $\beta$ -Lactamases à Spectre Etendu

**ECBU :** Examen Cyto- Bactériologique des Urines

**ERV :** Entérocoques Résistants à la Vancomycine

**EUCAST :** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

**GISA :** Glycopeptide Intermediate *S.aureus*

**LCR :** Liquide Céphalo-Rachidien

**LPV :** Leucocidine de Panton Valentine

**LSA :** Lincosamides, Streptogramines A

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

**Méti R** : Méricillino-Résistant

**MF** : Mc Farland

**MH** : gélose de Mueller-Hinton

**MLS** : Macrolides, Lincosamides, Streptogramines

**MLSb** : Macrolides, Lincosamides, Streptogramines B

**MODSA** : Modified PBP *S. aureus*

**MSCRAMM** : Microbial Surface Component Reconizing Adhesive Matrix Molecules

**OMA** : Otite Moyenne Aigue

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie

**PBP** : Penicillin-Binding Proteins

**PLP** : Protéine de Liaison aux Pénicillines

**PM** : Poids Moléculaire

**PSDP** : Pneumocoque de Sensibilité Diminuée aux Pénicillines

**QRDR** : Quinolone Resistance Determining Region

**R** : Rough

**S** : Smooth

**SARM** : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

**SCCmec** : Staphylococcal Cassette Chromosome mec

**SCN** : Staphylococcus à Coagulase Négative

**SCNMR** : Staphylococcus à Coagulase Négative Résistant à la Méricilline

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

**TSA** : Trypticase Soy Agar (gélose trypticase-soja)

**TSST-1** : Toxic Shock Syndrome Toxin-1

**VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine

**VISA** : Vancomycin Intermediate *S.aureus*

**VRSA** : Vancomycin Resistant *S.aureus*

**WHONET** : World Health Organistaion Network



# INTRODUCTION

---

## INTRODUCTION

---

Les cocci Gram positif, et tout particulièrement *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp et *Streptococcus pneumoniae*, sont responsables d'infections redoutables dans les pays industrialisés comme dans les pays en voie de développement.

En effet, le pneumocoque est l'un des plus grands pourvoyeurs d'infections communautaires, depuis la banale infection ORL jusqu'à la pneumonie ou à la méningite d'évolution mortelle.

L'entérocoque et le staphylocoque sont à leur tour au tout premier rang des bactéries responsables d'infections nosocomiales (*S.aureus* étant aussi à l'origine de multiples infections communautaires allant du banal impétigo à la grave pneumonie nécrosante).

Ces bactéries, notamment le pneumocoque de sensibilité diminuée aux  $\beta$ -lactamines, l'entérocoque résistant à la vancomycine, et le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, représentent aujourd'hui un véritable problème de santé publique par l'étendue des résistances qu'ils ont acquis à différentes familles d'antibiotiques.

Ces germes multi-résistants laissent parfois le clinicien face à une impasse thérapeutique justifiant la nécessité de conduire des études épidémiologiques afin de comprendre et de contrôler la diffusion et l'augmentation de la résistance de ces « super-bactéries » aux antibiotiques. C'est dans ce contexte, que nous avons orienté notre étude qui a été réalisée au niveau du Centre Hospitalier et Universitaire de Tizi-Ouzou. Notre but était de déterminer, par le biais de tests complémentaires à l'antibiogramme standard, les phénotypes de résistance aux antibiotiques des bactéries cocci Gram positif pour finalement constituer des données locales qui auront comme importance de mieux définir les stratégies thérapeutiques et préventives.

# PARTIE THEORIQUE

## CHAPITRE I

---

LES BACTERIES COCCI GRAM POSITIF

## 1. Le staphylocoque

### 1.1. Historique

Les staphylocoques ont été découverts dans un pus par Pasteur en 1880. En 1883, Ogston a créé le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains (kokkos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries. Il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorée [1].

### 1.2. Position taxonomique et classification

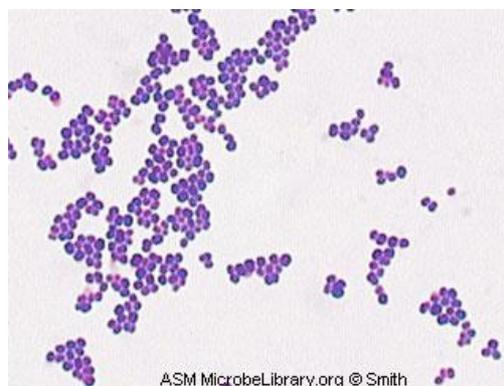
La classification de Bergey situe les staphylocoques dans le phylum des Firmicutes, classe des Bacilli, ordre des Bacillales, famille des Staphylococcaceae [2].

En 2015, le genre *Staphylococcus* comptait 50 espèces dont une vingtaine sont isolées chez l'homme [3].

### 1.3. Aspects microbiologiques

#### 1.3.1. Morphologie et structure

Les staphylocoques sont des bactéries à Gram positif, sphériques, de 0,5-1,5  $\mu\text{m}$  de diamètre, pouvant être isolés, ou organisés en diplocoques, en chaînettes ou en grappes [4]. Non sporulés, ils sont immobiles et habituellement sans capsule [1].



**Figure 1 :** Aspect des staphylocoques après coloration de Gram.

<https://www.mindmeister.com/fr/684991387/staphylococcus-aureus>

### 1.3.2. Caractères cultureux

Aéroanaérobies facultatifs, les staphylocoques sont des germes peu exigeants cultivant facilement sur milieux ordinaires : après 24h d'incubation, les colonies sont convexes, lisses, de 1 à 4mm de diamètre.

Ces germes poussent en présence de fortes concentrations salines (milieu sélectif de Chapman à 75% de NaCl). Leur pH optimal est de 7,0 à 7,5 [1].



**Figure 2 :** Culture de *S.aureus* sur gélose Chapman.

<https://bacteriologynotes.com/cultural-and-biochemical-characteristics-of-staphylococcus-aureus/>

### 1.3.3. Caractères biochimiques et antigéniques

Les staphylocoques sont à catalase positive et oxydase négative. La production d'une coagulase, d'un pigment caroténoïde jaune doré, et la présence d'une protéine A de paroi caractérisent *S.aureus*. Les autres espèces sont regroupées sous le terme de staphylocoques à coagulase négative (SCN) [4].

### 1.3.4. Facteurs de virulence

Les staphylocoques dorés sont caractérisés par leurs nombreux facteurs de virulence. Ils présentent en effet de multiples adhésines de surface appelées *microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules* (MSCRAMM), sécrètent de nombreuses enzymes (coagulases, protéases, etc.) et des toxines spécifiques (exfoliatines, *toxic shock syndrome toxin-1* [TSST-1], leucocidine de Panton Valentine [LPV], etc.). Ils ont également la capacité

d'interférer de multiples manières avec la réponse immunitaire innée de l'hôte pour échapper à celle-ci.

Les staphylocoques à coagulase négative, quant à eux, ont longtemps été considérés comme des contaminants du fait de leur caractère commensal et de leur faible nombre de facteurs de virulence. Cependant, leur rôle pathogène n'est aujourd'hui plus à démontrer. Leur physiopathologie, moins bien connue, implique principalement la formation de biofilm et l'échappement immunitaire [5].

## **1.4. Epidémiologie**

### **1.4.1. Habitat**

Les staphylocoques sont présents dans l'environnement (air, sol, eau, aliments, mobilier, matériels) et vivent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains et animaux dès la naissance. Le réservoir de *S.aureus* est essentiellement humain : on peut l'isoler particulièrement au niveau des zones chaudes et humides de l'organisme telles que les fosses nasales, l'oropharynx, les creux axillaires, le périnée et le tube digestif. Environ 20% des individus l'hébergent de façon permanente (porteurs dits « sains »), 30% de façon intermittente et 50% ne sont pas porteurs [6].

Quant à *S.epidermidis*, elle est l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée de la peau de l'homme sain [3].

### **1.4.2. Terrain et mode de transmission**

Les infections à staphylocoques peuvent survenir chez n'importe quel sujet. Néanmoins, des facteurs favorisants sont souvent retrouvés :

- Sujets âgés ;
- Nouveau-nés et nourrissons ;
- Diabète ;
- Dénutrition ;
- Antibiothérapie à large spectre ;

- Corticothérapie ;
- Immunosuppresseurs ;
- Matériel prothétique ;
- Séjour en chirurgie ou en réanimation ;
- Toxicomanie intraveineuse [7].

La transmission des staphylocoques s'effectue essentiellement par contact direct à partir de sujets colonisés ou de lésions staphylococciques ouvertes, cutanées ou muqueuses. La transmission indirecte est plus rare (objets divers, vêtements, literie, etc.) et elle est exceptionnellement aéroportée.

Les toxi-infections alimentaires collectives sont des épidémies concernant des sujets ayant consommé le même repas (restaurant, cantine), incriminant des aliments souillés par du personnel porteur de staphylocoques et dont les conditions de conservation ont permis la multiplication du germe et par ailleurs la sécrétion d'entérotoxines, comme cela peut arriver à l'occasion d'une rupture de la chaîne du froid [6].

## **1.5. Aspects cliniques des infections staphylococciques**

### **1.5.1. Infections par *S.aureus***

*S.aureus* provoque une panoplie d'infections cliniques qui sont réparties globalement en deux types de syndromes : les infections suppuratives (dépendent avant tout de la prolifération du germe) et les toxi-infections [3].

#### **1.5.1.1. Infections suppuratives**

En tant que bactérie pyogène *S.aureus* est l'agent étiologique :

- ✓ Des infections de la peau et des tissus mous d'origine souvent endogène, bénignes (folliculite, furoncle, onyxis) ou sévères avec extension loco- régionale (anthrax voire cellulite) ;

- ✓ Des infections des voies aériennes supérieures (sinusite, otite, mastoidite, infections pulmonaires) ;
- ✓ Des septicémies souvent à porte d'entrée cutanée et favorisées par la présence d'une lésion ou de matériel type cathéter ;
- ✓ Des staphylococcies viscérales à partir de bactériémies avec des localisations ostéo-articulaires (arthrite, ostéomyélite), cardiaques (endocardites), pleuropulmonaires ou urogénitales [3].

#### **1.5.1.2. Staphylococcies toxémiques**

Sont associées à la production de toxines :

- ✓ La toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) responsable du syndrome de choc toxique (diarrhées aqueuses, vomissements, myalgies, céphalées, fièvre, rash généralisé, choc hypovolémique) ou de son variant mineur la scarlatine (sans signes de choc ni défaillances multiviscérales) ;
- ✓ La leucocidine de Pantou -Valentine (PVL) au cours des pneumonies nécrosantes ;
- ✓ Les exfoliatines A et B lors du syndrome d'exfoliation généralisée (ou syndrome de la peau ébouillantée) et sa forme mineure l'impétigo bulleux localisé ;
- ✓ Les entérotoxines responsables des toxi-infections alimentaires 2 à 6 heures après ingestion de l'aliment contaminé [3].

#### **1.5.2. Infections par staphylocoque à coagulase négative**

Les SCN sont principalement responsables d'infections nosocomiales torpides [4].

*S.epidermidis* est responsable d'infections de prothèses vasculaires ou articulaires, de valves cardiaques, de valves de dérivations du LCR. Il est également impliqué dans la survenue de péritonites chez les patients en dialyse péritonéale continue ambulatoire, d'endocardites

subaiguës chez les drogués, d'endophtalmies et d'infections diverses particulièrement chez les immunodéprimés [1].

Les infections communautaires à SCN sont plus rares. Chez la femme en période d'activité sexuelle, *S.saprophyticus* est le deuxième micro-organisme à l'origine d'infections urinaires après *Escherichia coli*. Il est responsable de cystites, mais exceptionnellement de pyélonéphrites [4].

## **2. L'entérocoque**

### **2.1. Position taxonomique et classification**

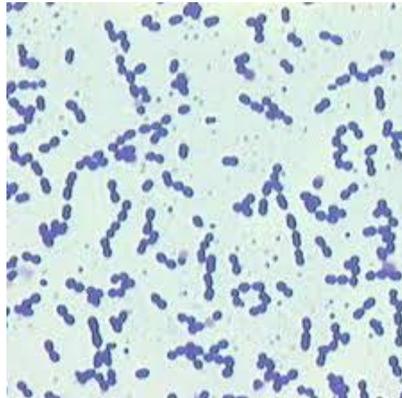
Le genre *Enterococcus* est placé dans le domaine des Bacteria, le phylum des Firmicutes, classe des Bacilli, ordre des Lactobacillales, famille des Enterococcaceae [8].

Ce genre inclut actuellement 54 espèces (janvier 2016), deux dominant largement en pathologie humaine : *E.faecalis* (85-90% des infections), et *E.faecium* (5-10%). Les autres espèces, bien que parfois rencontrées, sont marginales en pratique clinique [3].

### **2.2. Aspects microbiologiques**

#### **2.2.1. Morphologie et structure**

Les entérocoques sont définis par une coloration de Gram positive, un aspect ovoïde des cocci et une disposition préférentielle par paires ou courtes chaînettes après 18 heures de culture en milieu liquide [3]. Non sporulés, ils sont immobiles et dépourvus de capsule [9].



**Figure 3 :** Aspect des entérocoques après coloration de Gram.

<https://www.mrsa-today.com/enterococcus/>

### 2.2.2. Caractères cultureux

Anaérobies-aérotolérants, ils se distinguent des streptocoques par leur croissance sur gélose ordinaire et dans des conditions hostiles : à 10 °C et à 45 °C, en milieu hypersalé, en présence de 40% de bile et à pH 9,6 [10]. Sur gélose au sang, les colonies sont le plus souvent larges (0,5 à 1,5 mm), blanches ou gris-blanc et non hémolytiques (figure.4) [4].



**Figure 4 :** Colonies d'*E.faecalis* sur gélose au sang [3].

### 2.2.3. Caractères biochimiques et antigéniques

Dépourvus de catalase et de cytochrome oxydase, ils hydrolysent l'esculine en noircissant le milieu bile-esculine. La plupart des espèces produisent une pyrrolidonyl arylamidase et

portent l'antigène de groupe D de la classification de Lancefield. *E. faecalis* est caractérisé par sa résistance au tellurite de potassium [3].

#### **2.2.4. Facteurs de virulence**

Les entérocoques sont globalement assez pauvres en facteur de virulence si on les compare à d'autres bactéries pathogènes. Cependant, certains facteurs sont retrouvés et sont associés aux épidémies hospitalières. Les facteurs suivants ont été plus particulièrement mis en cause : *aggregation substance (asa 1)*, gélatinase (*gel E*), cytolysine, *enterococcal surface protein (esp)* et une hyaluronidase [11].

### **2.3. Epidémiologie**

#### **2.3.1. Habitat**

Les entérocoques sont des micro-organismes ubiquitaires essentiellement retrouvés au sein du microbiote intestinal de l'homme et des animaux. Chez l'individu sain, les entérocoques colonisent non seulement le tube digestif mais aussi le périnée et parfois le vagin et l'oropharynx. Les entérocoques, en raison de leur capacité à survivre dans des milieux hostiles, peuvent également contaminer l'environnement extérieur (sol, eaux, aliments) et hospitalier [10].

#### **2.3.2. Terrain et mode de transmission**

La faible pathogénicité de cet organisme explique probablement que les infections à entérocoque sont souvent acquises en milieu de soins. Les facteurs de risque des infections nosocomiales à entérocoque identifiés sont : la colonisation du tractus digestif, les maladies intercurrentes graves, un long séjour hospitalier, une chirurgie antérieure, une insuffisance rénale, la neutropénie, la transplantation (particulièrement hépatique et de moelle osseuse), la présence de cathéter urinaire ou vasculaire, un séjour en soins intensifs, l'utilisation d'antibiotiques (spécialement la vancomycine, les céphalosporines, aminosides, aztréonam, ciprofloxacine, imipénème) [12].

## 2.4. Aspects cliniques des infections à entérocoques

L'entérocoque peut causer : des infections urinaires, des bactériémies avec ou sans endocardites, des infections intra-abdominales ou pelviennes, des infections de plaies et des tissus mous, des méningites, des sepsis néonataux et beaucoup plus rarement, des infections respiratoires [12].

## 3. Le pneumocoque

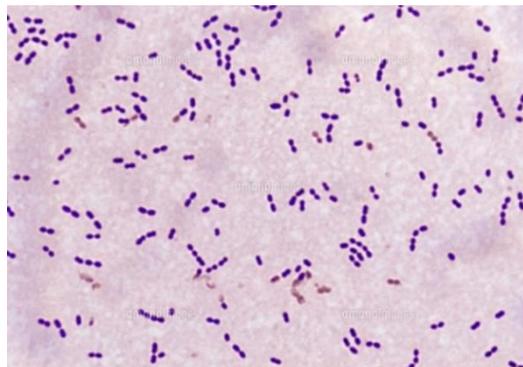
### 3.1. Position taxonomique et classification

*Streptococcus pneumoniae* appartient au règne des Bacteria, au phylum des Firmicutes, à la classe des Bacilli, à l'ordre des Lactobacillales, à la famille des Streptococcaceae [13].

### 3.2. Aspects microbiologiques

#### 3.2.1. Morphologie et structure

A l'examen microscopique, le pneumocoque se présente comme un cocci Gram positif, généralement capsulé (halo clair autour de la bactérie), d'allure lancéolée (en flamme de bougie), typiquement groupé par deux (diplocoque) ou parfois de manière isolée en chaînette. Quand il est en voie de lyse, le pneumocoque peut se présenter sous forme plus ou moins pseudobacillaire [14].



**Figure 5 :** Aspect du pneumocoque après coloration de Gram.

<http://goodyear-dunlop-press.com/pneumocoque/55756/>

### 3.2.2. Caractères cultureux

Le *S.pneumoniae* est de métabolisme anaérobie préférentiel mais tolérant l'oxygène comme tout streptocoque. Ce germe fragile nécessite une culture sur milieu exigeant (gélose au sang), en anaérobie ou sous CO<sub>2</sub>.

Après 24h d'incubation, il donne des colonies transparentes, en gouttes de rosée, à bord régulier et surface bombée. Ces colonies ont généralement une taille de 0,5 à 1,5 mm et sont entourées d'une zone d'hémolyse partielle (bactérie  $\alpha$ -hémolytique).

Les bactéries capsulées donnent un aspect S (smooth = lisse), les non capsulées un aspect R (rough = rugueux) et certains sérotypes un aspect muqueux. Les colonies s'aplatissent et s'ombiliquent rapidement sous l'action d'autolysines donnant un aspect en anneau déprimé en son centre spécifique du pneumocoque. Ce phénomène d'autolyse impose en pratique des repiquages fréquents pour conserver la vitalité des souches [15].



**Figure 6 :** Colonies de *S.pneumoniae* sur gélose au sang frais.

[www.infectiologie.org.tn/Streptococcuspneumoniae](http://www.infectiologie.org.tn/Streptococcuspneumoniae)

### 3.2.3. Caractères biochimiques et antigéniques

Le pneumocoque est dépourvu de catalase et de peroxydase [16]. Il est nitrate réductase négative, capable de fermenter les sucres (glucose, saccharose, lactose) [17].

Son identification formelle repose en pratique sur trois critères :

- La sensibilité à l'optochine ;
- La mise en évidence des antigènes capsulaires ;
- La lyse par la bile [17].

### 3.2.4. Facteurs de virulence

Les facteurs majeurs de virulence du *S.pneumoniae* sont la capsule bactérienne et la pneumolysine :

#### a) La capsule

Couche la plus externe de la bactérie, elle est constituée de macromolécules polysidiques. Seules les souches capsulées possèdent un pouvoir pathogène expérimental, par opposition aux souches dépourvues de capsule dites rugueuses. Son action principale est la résistance à la phagocytose et sa capacité à diminuer l'opsonisation. Elle joue un rôle dans l'adhésion et la colonisation du rhinopharynx et forme un gel hydrophile à la surface de la bactérie [18,19].

#### b) Pneumolysine

La pneumolysine appartient à la famille des toxines thiol activables. Elle est intracytoplasmique, et ne devient active qu'après libération dans le milieu extérieur par l'action d'une autolysine. Elle possède une activité cytotoxique directe vis-à-vis des cellules respiratoires et endothéliales [20].

## 3.3. Epidémiologie

### 3.3.1. Habitat

Le pneumocoque colonise fréquemment les voies respiratoires de l'homme puisqu'il y aurait jusqu'à 70 % de porteurs pharyngés sains ; on peut parfois le retrouver au niveau des muqueuses génitales.

Le germe, réputé fragile, survit peu dans le milieu extérieur.

C'est un germe essentiellement humain, il est très rarement isolé chez les animaux [21].

### 3.3.2. Terrain et mode de transmission

Le pneumocoque est un germe transmis par voie aérienne : la transmission est presque toujours directe par l'intermédiaire des gouttelettes de Pflûgge [21].

La proportion de sujets colonisés varie en fonction de différents facteurs qui sont

essentiellement l'âge (jeunes enfants – dont l'âge est inférieur à 2 ans– et sujets âgés), le mode de garde, la fratrie, les conditions socio-économiques, les variations saisonnières surtout hivernale, l'immunodépression (particulièrement les sujets atteints de drépanocytose, d'asplénie, de VIH, de tumeurs malignes et de certains syndromes d'immunodéficience) ainsi que la notion d'une antibiothérapie en cours ou récente [22].

### **3.4. Aspects cliniques des infections à pneumocoques**

A l'occasion d'une baisse de l'immunité, *S.pneumoniae* peut se multiplier activement dans l'arbre respiratoire. Il va provoquer :

- Des affections loco-régionales : bronchites, trachéobronchites, sinusites, conjonctivites, otites moyennes aiguës (OMA), pneumonies franches lobaires aiguës (accompagnées dans 15 à 25% des cas de bactériémie), pleurésies.
  
- Des affections à distance : méningites, péricardites, péritonites, arthrites.

Un caractère important des infections à pneumocoque est à retenir. C'est la fréquence des réactions fibrineuses génératrices de cloisonnements (par exemple pleuraux ou méningés) qui, eux-mêmes, aggravent le pronostic (morbimortalité élevée) [23,25].

# PARTIE THEORIQUE

## CHAPITRE II

---

PROFILS DE RESISTANCE DES COCCI GRAM  
POSITIF AUX ANTIBIOTIQUES

## I. Généralités sur les antibiotiques

### 1. Définition d'un antibiotique

Le terme antibiotique dérive de celui d'antibiose (du grec anti « Contre » et bios « la vie »). Il désigne une molécule (d'origine naturelle, synthétique ou semi- synthétique) qui détruit (bactéricide) ou bloque la croissance (bactériostatique) par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie [26].

### 2. Activité et mécanisme d'action

Chaque antibiotique a sa propre cible avec laquelle il interagit. Pour les cocci Gram positif on s'intéressera d'avantage aux  $\beta$ -lactamines, aux glycopeptides, aux macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS), aux aminosides et aux fluoroquinolones.

#### A. $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines ont pour cibles différentes enzymes (« protéines liant les pénicillines » ou PLP) impliquées dans la formation du peptidoglycane. La fixation des  $\beta$ -lactamines à ces cibles entraîne l'absence de polymérisation du peptidoglycane et secondairement la synthèse par la bactérie d'autolysines conduisant à sa mort. Les  $\beta$ -lactamines sont donc bactéricides [27].

#### B. Glycopeptides

Les glycopeptides se lient avec une haute affinité aux résidus D-Ala-D-Ala terminaux des précurseurs du peptidoglycane, bloquant ainsi l'addition de ces derniers à la chaîne du peptidoglycane naissant et prévenant les étapes ultérieures de sa polymérisation. Ces molécules sont lentement bactéricides [27].

**C. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)**

Les macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) appartiennent au même groupe du fait d'un mode d'action proche (inhibition de la synthèse protéique par fixation sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome bactérien) et d'une résistance fréquemment croisée entre ces antibiotiques [27].

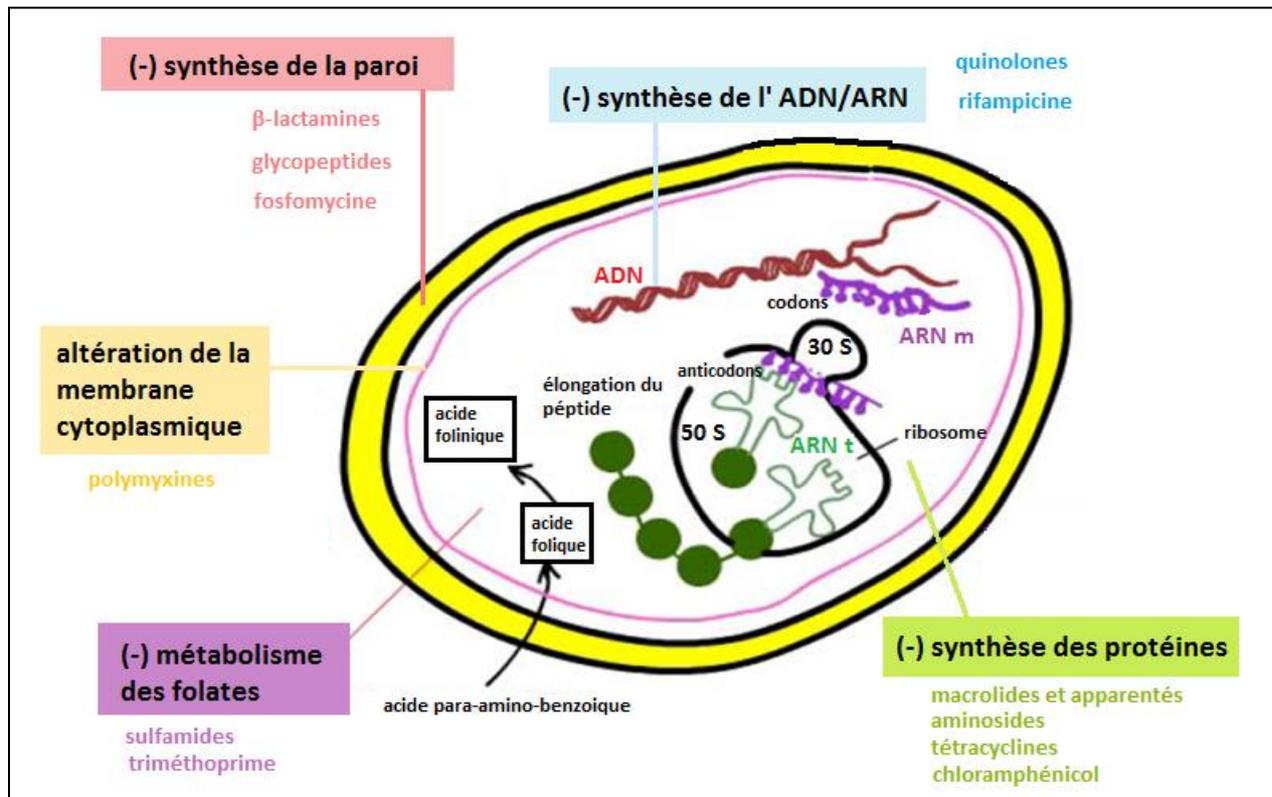
Les macrolides et les lincomycines ont une activité bactériostatique, alors que les streptogramines ont une activité bactéricide, au moins en l'absence de résistance aux streptogramines B [28].

**D. Aminosides**

Les aminosides inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien. Ils exercent une activité bactéricide rapide qui justifie leur association aux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi ( $\beta$ -lactamines et glycopeptides) pour le traitement des infections graves [27].

**E. Fluoroquinolones**

Les quinolones ont pour cible des enzymes essentielles à la survie bactérienne, les topoisomérases de type II incluant la gyrase (responsable du surenroulement de la molécule d'ADN nécessaire à son stockage sous forme compacte) et la topoisomérase IV (responsable du désenchevêtrement de l'ADN s'opérant lors de la traduction en ARNm). La liaison des quinolones à leurs cibles entraîne de ce fait l'arrêt de la réplication et de la transcription de l'ADN bactérien. Les fluoroquinolones sont rapidement bactéricides [27].



**Figure 7:** Résumé des différents modes d’actions des antibiotiques.

[http://www.em-consulte.com/em/SFO/2015/html/file\\_100030.html](http://www.em-consulte.com/em/SFO/2015/html/file_100030.html)

## II. Mécanismes généraux de la résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est le phénomène qui permet à la bactérie de supporter des concentrations d’un antibiotique donné notablement plus élevées que celles que l’on peut atteindre in vivo. Elle peut être naturelle ou acquise [29].

### 1. La résistance naturelle ou intrinsèque

La résistance naturelle concerne toutes les souches d’une espèce bactérienne. Elle détermine un phénotype sauvage. Sur le plan moléculaire, les gènes de résistance naturelle sont d’origine

chromosomique. La résistance chromosomique est un caractère permanent qui est transmissible aux cellules filles lors de la réplication bactérienne [29].

## **2. La résistance acquise**

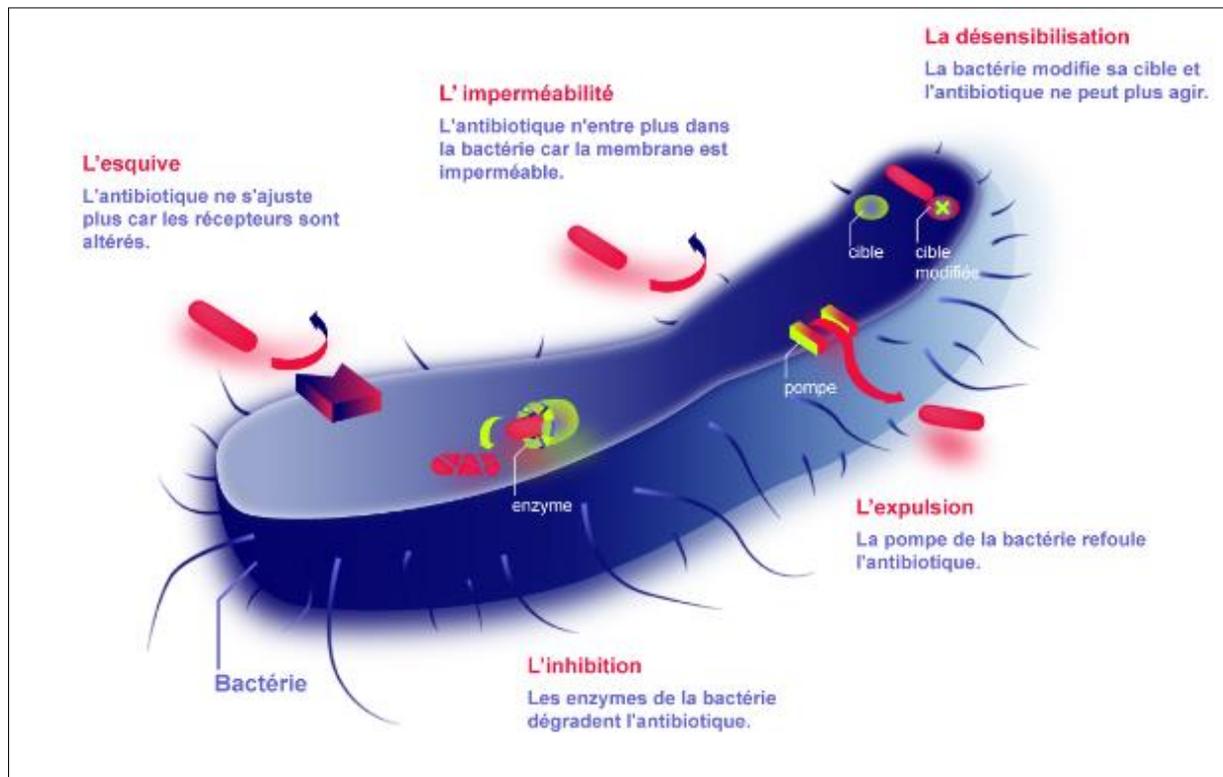
La résistance acquise ne concerne qu'une partie des souches d'une espèce bactérienne [29].

L'acquisition d'un nouveau mécanisme de résistance résulte soit d'une mutation dans un gène chromosomique (mutation dont les caractéristiques sont : spécificité, spontanéité, rareté, indépendance, et transmissibilité), soit de l'acquisition d'un gène de résistance par l'intermédiaire de plasmides, de transposons, ou d'intégrons (résistance extra chromosomique) grâce à des processus aussi différents que la conjugaison, la transformation, et la transduction. Ce sont là, les mécanismes génétiques de la résistance acquise [29].

## **3. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques**

Différents mécanismes biochimiques vont conduire à la manifestation de la résistance ; quatre ont été décrits :

- Inactivation enzymatique de l'antibiotique ;
- Modification de la cible ;
- Diminution de la perméabilité membranaire ;
- Excrétion de l'antibiotique [29].



**Figure 8:** Mécanismes de résistance de la bactérie à l'antibiotique.

<http://sciences-en-ligne.net/news/item/119>

### III. Résistance des cocci Gram positif aux antibiotiques

#### 1. Le staphylocoque

##### 1.1. Résistances naturelles

Les souches sauvages de staphylocoque sont résistantes aux quinolones de première génération (acide nalidixique, acide oxolinique et fluméquine), aux monobactames (aztréonam) ainsi qu'aux peptides cycliques (colistine). Une résistance supplémentaire à la fosfomycine et à la novobiocine est retrouvée chez *S.saprophyticus*. Les autres antibiotiques

ont tous une action potentielle sur les staphylocoques (sauf en cas de développement de résistances acquises) [30].

## 1.2. Résistances acquises

Les mécanismes et les gènes de résistance des staphylocoques dorés et des staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont les mêmes. En revanche, la fréquence des résistances diffère : elle est plus élevée pour les SCN, du moins pour ceux que l'on isole dans les infections humaines (*S.epidermidis* et *S.haemolyticus*) [31].

### 1.2.1. $\beta$ -lactamines

#### ➤ Résistance par production de pénicillinase

La sécrétion de pénicillinases est présente chez environ 90% des souches de *Staphylococcus* spp [28].

Ces enzymes extracellulaires codées par des plasmides (gène *blaZ*) et inductibles par les  $\beta$ -lactamines inactivent les pénicillines G et V, les aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline, etc.), les carboxypénicillines (ticarcilline) et les ureidopénicillines (pipéracilline) par ouverture du cycle  $\beta$ -lactame. En revanche, elles ont peu d'affinité pour la méticilline, l'oxacilline, la cloxacilline, les céphalosporines, les carbapénèmes, et sont inactivées par les inhibiteurs de pénicillinases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) [27,31].

#### ➤ Résistance à la méticilline

La résistance à la méticilline est principalement due à la production d'une PLP additionnelle, la PLP2a ayant une affinité diminuée pour les  $\beta$ -lactamines. Cette PLP2a est une transpeptidase qui peut catalyser à elle seule l'assemblage du peptidoglycane lorsque les autres PLP sont inhibées par les  $\beta$ -lactamines [27].

Protéine codée par le gène d'expression inductible *mec A* (porté par un élément génétique mobile particulier : la cassette chromosomique *SCCmec*), la PLP2a est responsable de la résistance intrinsèque à toutes les  $\beta$ -lactamines, ainsi qu'aux inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases, à l'exception de nouvelles céphalosporines actives sur les SARM récemment mises sur le marché (ceftaroline, ceftobiprole) [27,32].

Un variant de *mec A*, nommé *mec C*, a été décrit en 2011 chez *S.aureus* et est également responsable d'une résistance généralement isolée à la méticilline (PLP2c additionnelle). Il est à noter que deux autres mécanismes peuvent être à l'origine d'une sensibilité diminuée des souches de *S.aureus* à l'oxacilline mais ils restent marginaux. Ces deux mécanismes sont l'hyperproduction constitutive de la pénicillinase plasmidique (souches dites BORSA, pour *borderline oxacillin-resistant S.aureus*) et la modification de l'affinité ou de l'expression des PLP naturelles de *S. aureus* surtout la PLP4 (souches dites MODSA, pour *modified PBP S. aureus*) [32].

Les souches méti R sont habituellement résistantes à d'autres antibiotiques : aminosides, tétracyclines et macrolides [1].

### 1.2.2. Glycopeptides

La diminution de sensibilité aux glycopeptides des souches **GISA** (*glycopeptide intermediate S. aureus*) est liée à une anomalie de synthèse du peptidoglycane avec épaissement de la paroi, responsable d'un défaut de pénétration et de fixation des glycopeptides au niveau de leur site d'action. Ces anomalies sont dues à une accumulation de mutations et non à l'acquisition de matériel génétique [32].

La résistance de haut niveau aux glycopeptides des souches **VRSA** (*vancomycin resistant S.aureus*) est qu'en à elle liée à l'acquisition par ces dernières de l'opéron *van A*, responsable de la résistance aux glycopeptides chez les entérocoques, mais ce phénomène reste rarissime (seulement 13 souches décrites dans le monde) [32].

### 1.2.3. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)

La résistance des staphylocoques aux MLS peut reposer sur la modification de la cible, l'inactivation de l'antibiotique ou un mécanisme d'efflux. Le mécanisme le plus fréquent étant l'acquisition d'une méthylase modifiant le site d'action des MLS au niveau du ribosome [32].

Ce phénotype, appelé MLS<sub>b</sub>, est le résultat de l'expression de gènes *erm* (*erythromycin ribosome methylase*) d'origine plasmidique. Chez *S.aureus*, les deux principaux gènes identifiés sont *erm A* et *erm C* dont l'expression peut être inductible (résistance aux macrolides en C14 et C15) ou constitutive (résistance aux macrolides en C14, C15, C16, lincosamides, streptogramines B) [32].

Dans le premier cas, la méthylase n'est synthétisée qu'en présence de macrolide inducteur. Dans le deuxième, la production de la méthylase est permanente, indépendante de l'antibiotique [27].

### 1.2.4. Aminocyclitolides

La résistance acquise des staphylocoques aux aminocyclitolides est principalement due à l'acquisition via des transposons ou des plasmides d'enzymes inactivant ces antibiotiques révélant ainsi 3 phénotypes majeurs [32].

**Tableau I** : Enzymes inactivatrices des aminosides et phénotypes de résistance [27].

Phénotype	Acronyme du Phénotype	Enzyme	Conséquences sur la synergie avec les $\beta$ -lactamines ou les glycopeptides
Kanamycine	K	Aminoside phosphotransférase 3' type III [APH(3')-III]	Pas de synergie avec kanamycine et amikacine
Kanamycine-tobramycine	KT	Aminoside nucléotidyltransférase 4' -4'' type I [ANT(4')-(4'')-I]	Pas de synergie avec kanamycine, tobramycine et amikacine
Kanamycine-tobramycine-gentamicine	KTG	Aminoside acétyltransférase 6'-phosphotransférase 2'' [AAC(6')-APH(2'')]	Pas de synergie avec kanamycine, gentamicine, nétilmicine, tobramycine, amikacine

### 1.2.5. Fluoroquinolones

La résistance du staphylocoque aux fluoroquinolones est croisée entre toutes les molécules de cette famille, à part la moxifloxacin qui peut rester active sur une souche résistante aux autres fluoroquinolones [32].

Le mécanisme de résistance repose le plus souvent sur une modification de la cible (topoisomérases II et IV) liée à la survenue de mutations chromosomiques dans une courte région conservée appelée QRDR (*quinolone resistance determining region*) et parfois sur un phénomène d'efflux [27].

## 2. L'entérocoque

### 2.1. Résistances naturelles

Comme les autres cocci Gram positifs, les entérocoques sont naturellement résistants aux quinolones de première génération, aux monobactames et aux polymyxines. Ils ont également une résistance native à l'oxacilline et aux céphalosporines ainsi qu'aux sulfamides, aminosides (bas niveau) et fosfomycine [30].

Certaines espèces, dont *E.faecalis*, ont une résistance supplémentaire aux lincosamides et aux streptogramines A (phénotype LSA) et contrairement à ce dernier, *E.faecium* est naturellement résistant à l'imipénème [30,33].

*E.gallinarum*, *E.casseliflavus*, et *E.flavescens* présentent quant à elles une résistance naturelle à la vancomycine [34].

### 2.2. Résistances acquises

#### 2.2.1. $\beta$ -lactamines

##### ➤ Résistance par production de pénicillinase

Mécanisme décrit principalement chez *E.faecalis*. Le gène responsable est identique à *blaZ* de la pénicillinase de type A retrouvée chez *S.aureus*, mais contrairement à ce dernier, l'expression de cette  $\beta$ -lactamase est constitutive. Ce mécanisme rend la bactérie résistante à la pénicilline G, aux aminopénicillines, carboxypénicillines et ureidopénicillines mais l'activité de ces derniers est restaurée en présence d'inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases. Cette résistance est le plus souvent associée à une résistance de haut niveau aux aminosides [35].

➤ **Résistance associée à la PLP5**

Mécanisme décrit principalement chez *E.faecium*. Un niveau intermédiaire de résistance aux  $\beta$ -lactamines (CMI  $\leq$  16 mg/L) est le plus souvent lié à l'augmentation quantitative de la PLP5. A l'inverse, un haut niveau de résistance est rarement associé à une hyperproduction de PLP5 mais plus communément à des mutations du gène de structure de la PLP5 [35].

Ce mécanisme rend la bactérie résistante aux pénicillines et aux combinaisons de pénicillines-inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase [12].

### 2.2.2. Glycopeptides

La résistance aux glycopeptides a initialement été décrite en Europe en 1986, mais sans nécessairement impliquer des souches multi-résistantes ou des patients hospitalisés. L'apparition de la résistance a été attribuée à l'utilisation de l'avoparcine, un antibiotique utilisé en médecine vétérinaire comme facteur de croissance.

Neuf types de résistance aux glycopeptides ont été décrits chez les entérocoques jusqu'à présent. Chaque type est caractérisé par un gène codant pour une ligase (*Van A*, *Van B*, *Van C*, *Van D*, *Van E*, *Van G*, *Van L*, *Van M* et *Van N*). La résistance acquise est liée le plus souvent au phénotype *Van A* qui confère une résistance inductible élevée à la vancomycine et à la teicoplanine, ainsi qu'au phénotype *Van B* qui confère une résistance inductible de modérée à élevée à la vancomycine seulement. Les phénotypes *Van D*, *Van E*, *Van G*, *Van L*, *Van M* et *Van N* ne sont rencontrés que rarement [12].

### 2.2.3. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)

Chez les entérocoques, le phénotype MLSb est très fréquent (plus de 50-60 % des souches) et se superpose à la résistance naturelle LSA chez *E.faecalis* [35].

### 2.2.4. Aminocyclitolides

La résistance acquise des entérocoques aux aminocyclitolides repose sur deux mécanismes principaux, des mutations chromosomiques de la sous-unité 30S du ribosome qui affectent en particulier la sensibilité à la streptomycine, et l'acquisition par transfert horizontal de gènes codant pour des enzymes inactivatrices des aminocyclitolides [32].

Ce dernier mécanisme est de loin le plus fréquent et concerne la totalité des aminocyclitolides [35].

## 3. Le pneumocoque

### 3.1. Résistances naturelles

Comme tous les coques à Gram positif, *S.pneumoniae* est naturellement résistant au pénicilline, à l'aztréonam, aux quinolones (sauf fluoroquinolones anti-pneumococciques) et à la colistine. Il présente également une résistance naturelle de bas niveau aux aminocyclitolides comme toute bactérie faisant partie du genre *Streptococcus* [36].

Le pneumocoque est donc une espèce habituellement sensible à la plupart des antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram positif, mais le traitement de référence des infections dues à ce germe reste les  $\beta$ - lactamines [14].

### 3.2. Résistances acquises

#### 3.2.1. $\beta$ -lactamines

Chez *S.pneumoniae*, la diminution de la sensibilité aux  $\beta$ -lactamines résulte de modifications qualitatives et quantitatives de leurs cibles, les protéines de liaison à la pénicilline (PLP) [37]. Ces modifications font suite à une mutation ponctuelle ou à une recombinaison génétique par transfert de gènes de PLP issus d'espèces voisines de la sphère oro-pharyngée (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*) qui aboutit à la formation de PLP mosaïques [38].

*S. pneumoniae* possède 6 PLP : 5 de haut PM (PLP1a, PLP1b, PLP2a, PLP 2x, PLP2b) et 1 de bas PM (PLP3). Selon le nombre et la nature des PLP modifiées, les CMI des différentes  $\beta$ -lactamines augmentent de façon imprévisible :

- PLP (2b et 2x) : résistance de bas niveau à la pénicilline G ;
- PLP (1a et 2x) ou (1a, 2x et 2b) : résistance de haut niveau à la pénicilline G ;
- PLP (1a et 2x) +/- PLP3 : résistance de haut niveau aux céphalosporines de troisième génération [36].

#### 3.2.2. Glycopeptides

La vancomycine et la teicoplanine sont actives contre le pneumocoque, les CMI se situant entre 0,04 et 1 mg/L pour la vancomycine. L'utilisation de la vancomycine est recommandée en association à la ceftriaxone ou au céfotaxime dans les méningites à *S. pneumoniae* lorsque la CMI du céfotaxime est supérieure à 0,25 mg/L pour la souche en cause.

Aucune résistance à la vancomycine n'a été décrite mais des souches tolérantes ont été signalées [36]. Cette tolérance serait due à un défaut de déclenchement du système autolytique de la bactérie [13].

### 3.2.3. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)

Chez *S.pneumoniae*, deux mécanismes principaux sont responsables de la résistance acquise aux MLS : la modification de la cible et l'efflux. Le premier étant le plus fréquent [36].

#### ➤ Résistance par modification de la cible

Les souches de pneumocoque résistantes à l'érythromycine produisent une méthylase qui modifie l'ARN ribosomal 23S (cible de l'antibiotique). Cette résistance est sous la dépendance du gène *erm B* ou plus rarement *erm TR* (sous-groupe de *erm A*) [36].

L'expression de cette résistance est inductible le plus souvent ou constitutive. Elle entraîne une résistance croisée de haut niveau (CMI > 64 mg/L) aux macrolides, lincosamides et streptogramines du groupe B engendrant un phénotype MLSb [37].

#### ➤ Résistance par efflux

Cette résistance qui consiste à rejeter l'antibiotique en dehors de la bactérie, est sous la dépendance du gène *mef E*. Ce mécanisme d'efflux concerne uniquement les macrolides à noyau lactone à 14 (sauf la télithromycine) et 15 atomes déterminant ainsi un phénotype M.

L'expression de cette résistance est à plus faible niveau que celle de type MLSb ; les CMI de l'érythromycine sont de l'ordre de 8-16 mg/L [36].

### 3.2.4. Aminosides

Naturellement résistant à bas niveau à l'ensemble des aminosides, *S.pneumoniae* est exceptionnellement résistant à la gentamicine et fréquemment résistant à la kanamycine (croisée avec l'amikacine) [36].

Le gène qui code pour la résistance à la kanamycine est le plus souvent situé sur un transposon qui contient un gène de résistance *tet M* et *erm B* [36].

### 3.2.5. Fluoroquinolones

La résistance du pneumocoque aux fluoroquinolones est liée soit à des mutations dans l'une ou l'autre des deux cibles que sont la gyrase et la topoisomérase IV, soit à l'augmentation d'un efflux actif.

#### ➤ Résistance par modification de la cible

Les mutations siègent en général dans une région appelée QRDR (*quinolone resistance determining region*). La modification d'une seule des deux cibles est responsable d'un bas niveau de résistance aux fluoroquinolones, alors que l'addition d'une mutation dans la deuxième cible conduit à un haut niveau de résistance [36].

Le haut niveau de résistance s'exprime par une résistance croisée à l'ensemble des fluoroquinolones anti- pneumococciques (lévofloxacine et moxifloxacine), alors que le bas niveau de résistance est de mauvaise expression (l'activité de ces molécules n'est peu, voire pas, affectée par la modification) [36].

#### ➤ Résistance par efflux

Le mécanisme d'efflux est lié à la mise en jeu de pompe(s) qui empêche(nt) certaines fluoroquinolones comme la ciprofloxacine et la norfloxacine d'accéder à leurs cibles. Il ne concerne à ce jour aucune des fluoroquinolones anti-pneumococciques dont nous disposons [36].

PARTIE PRATIQUE  
MATERIELS ET  
METHODES

---

## Objectifs

- ❖ Dépister les principaux profils de résistance des bactéries cocci Gram positives les plus prédominantes en médecine humaine (staphylocoque, entérocoque et pneumocoque) aux différentes familles d'antibiotiques utilisées et déterminer grâce à des tests complémentaires phénotypiques les mécanismes de résistance correspondant aux principaux profils dépistés.
- ❖ Mettre en avant l'ampleur du phénomène de résistance aux antibiotiques (ATB).

## Matériels et méthodes

### I. Cadre de l'étude

C'est une étude descriptive observationnelle prospective, réalisée au laboratoire de microbiologie du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou sur une période de 4 mois allant du 03 décembre 2017 au 03 avril 2018. Elle a porté sur 116 patients hospitalisés ou consultants.

#### 1. Souches bactériennes étudiées

- **Critères d'inclusion :** tous les prélèvements à visée diagnostique dont le germe isolé a été identifié comme *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp ou *S. pneumoniae*. Aucune restriction de service, ni d'origine de prélèvement n'intervient.
- **Critères de non inclusion :** tous les échantillons dont le germe isolé ne fait pas partie du cadre de notre étude.
- **Critères d'exclusion :** les souches dont le réisolement a échoué pour cause d'une mauvaise conservation (contamination).

## 2. Matériel et milieux de culture

- Bec bunsen ;
- Pipettes pasteur ;
- Anse de platine ;
- Boîtes de Pétri ;
- Etuve ;
- Pincés ;
- Pied à coulisse ;
- Ecouvillons stériles ;
- Tubes d'eau physiologique 0,9% ;
- Etalon 0,5 MF (ou densitomètre) ;
- Disques d'antibiotiques à tester ;
- Gélose nutritive ;
- Gélose Chapman ;
- Gélose au sang cuit ;
- Gélose Mueller Hinton (MH) ;
- MH supplémenté de vancomycine ;
- Plasma humain ;
- API 20 Strep.

## II. Méthodologie

### 1. Analyse microbiologique [30]

#### 1.1. Test de sensibilité aux antibiotiques (la méthodologie est décrite en annexe dans la fiche technique n°1)

L'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<sup>ème</sup> édition).

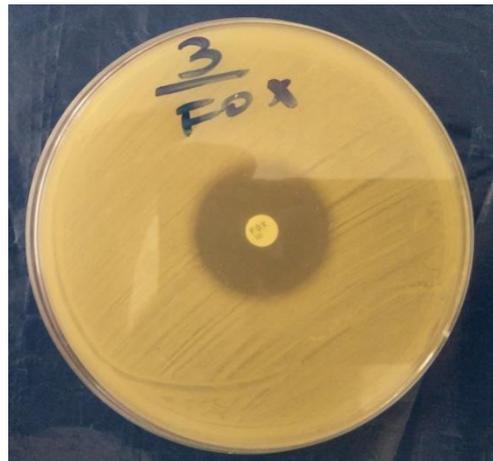
Les souches ont fait l'objet par la suite de tests complémentaires de sensibilité aux ATB suivant les mêmes recommandations.

### 1.2. Tests complémentaires de sensibilité aux antibiotiques (les détails techniques sont décrits en annexe : fiches n° 2, 3, 4, 5)

L'antibiogramme n'étant pas toujours suffisant pour détecter l'ensemble des résistances, des tests complémentaires sont parfois nécessaires pour assurer un résultat fiable. Pour les germes que nous étudions, ces tests sont comme suit :

#### 1.2.1. Recherche de la résistance de *Staphylococcus* spp à la méticilline

Pour le genre *Staphylococcus*, seul le disque de céfoxitine (30 µg) pour lequel l'expression de la résistance est la plus franche, a été testé dans l'antibiogramme standard pour la détection de la résistance à l'oxacilline par production de PLP2a (gène *mec A*). Les disques d'oxacilline n'étant pas fiables.



**Fig. 9** Souche de *S.aureus* sensible à la méticilline.

**Tableau II** : Critères d'interprétation du test à la céfoxitine pour *Staphylococcus* spp

Souche testée	Diamètres critiques (mm)		
	R	I	S
<i>S.aureus</i>	≤ 21	–	≥ 22
SCN sauf <i>S. lugdunensis</i>	≤ 24	–	≥ 25

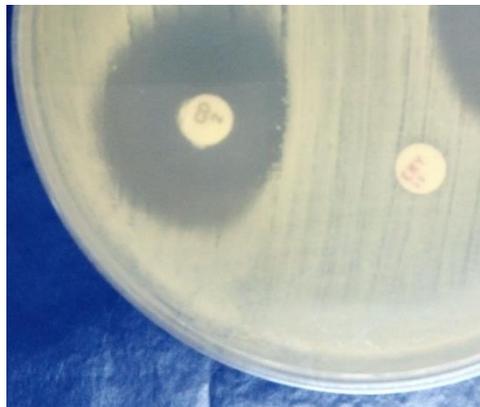
### 1.2.2. Détection de la résistance inductible à la clindamycine

La détection de la résistance inductible à la clindamycine (CLI) a été faite par la technique de diffusion des disques (se référer à la fiche technique n° 2). Les bactéries concernées sont :

- *S.aureus* et *S.lugdunensis* (se distingue des autres SCN par une virulence proche de celle de *S.aureus*)
- Staphylocoques à coagulase négative (SCN)
- *Streptococcus pneumoniae*

Les souches concernées sont celles résistantes à l'érythromycine et sensibles ou intermédiaires à la clindamycine.

Ce mécanisme de résistance est identifié par un aplatissement de la zone d'inhibition autour du disque de clindamycine (non inducteur) en regard du disque d'érythromycine (inducteur), formant une zone en forme de D (figure.10) ou par la présence de fines colonies dans la zone d'inhibition autour du disque de CLI.



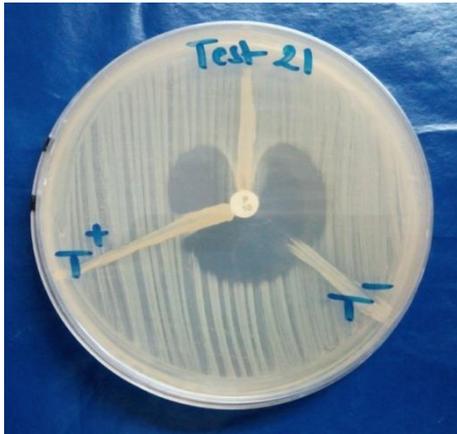
**Fig. 10** Souche de *S.aureus* présentant une résistance inductible à la clindamycine.

### 1.2.3. Recherche de la $\beta$ - lactamase (test du trèfle)

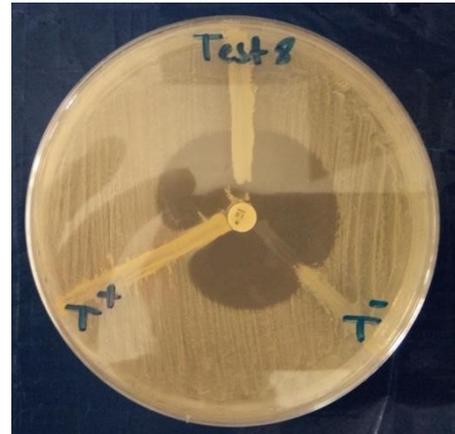
Pour les souches de *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp, la recherche de la sécrétion de  $\beta$ -lactamase est obligatoire.

La présence de pénicillinase a été vérifiée par le test microbiologique du trèfle (se référer à la fiche technique n° 3)

Les figures ci-dessous montrent la différence entre un test du trèfle positif et un autre négatif :



**Fig. 11** Souche de *Staphylococcus* spp productrice de pénicillinases.



**Fig. 12** Souche de *Staphylococcus* spp non productrice de pénicillinases.

#### 1.2.4. Recherche de la sensibilité diminuée aux glycopeptides

##### a) Chez *Staphylococcus* spp

Pour déterminer la sensibilité des staphylocoques à la vancomycine, la détermination de la CMI doit être effectuée systématiquement pour toutes les souches.

La méthode de diffusion des disques convient mal pour les glycopeptides : ces grosses molécules diffusent médiocrement dans la gélose. En effet, elle ne permet pas de différencier les souches de :

- *S.aureus* sensibles à la vancomycine des souches de sensibilité diminuée (intermédiaire) ;
- SCN sensibles, intermédiaires ou résistantes (diamètres d'inhibition similaires).

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

Toute souche de *S.aureus* dont la CMI de la vancomycine  $\geq 8$  µg/ml ainsi que celles de SCN dont la CMI de la vancomycine  $\geq 32$  µg/ml doivent être envoyées à un laboratoire de référence.

Pour déterminer la sensibilité des staphylocoques à la teicoplanine, sont utilisés la méthode de diffusion des disques et/ou la détermination de la CMI en présence des signes d'alerte suivants :

- Diamètre < 14 mm pour la teicoplanine ;
- Un diamètre d'inhibition de la teicoplanine inférieur ou égal d'au moins 3 mm à celui de la vancomycine ;
- La présence de colonies dans la zone d'inhibition d'un glycopeptide ;
- Interactions (synergie ou antagonisme) entre les disques de glycopeptides et oxacilline (5µg) ;
- Résistance de la souche à la méticilline, à la gentamicine ou à la rifampicine ;
- Lors d'infections sévères.

**Tableau III :** Concentrations critiques des glycopeptides recommandées par le CLSI 2014 pour les staphylocoques

	Concentrations critiques (µg/ml)		
	S	I	R
<b><i>S.aureus</i></b>			
Vancomycine	$\leq 2$	4 -8	$\geq 16$
Teicoplanine	$\leq 8$	16	$\geq 32$
<b>SCN</b>			
Vancomycine	$\leq 4$	8 -16	$\geq 32$
Teicoplanine	$\leq 8$	16	$\geq 32$

**b) Chez *Enterococcus* spp**

L'isolement d'une souche d'*E.faecium* résistante à la vancomycine est une alerte car il y a risque d'épidémie, ce qui nécessite une enquête de dépistage.

La mise en évidence de ces résistances se fait en trois étapes :

- Critères de présomption ou d'alerte ;
- Etape de screening ou criblage ;
- Test de confirmation.

**➤ Critères de présomption ou d'alerte**

- Diamètre <17mm pour la vancomycine et < 14 mm pour la teicoplanine ;
- Une différence de 3 mm (au moins) entre les diamètres d'inhibition de la vancomycine et de la teicoplanine ;
- La présence de colonies dans la zone d'inhibition de la vancomycine et/ou teicoplanine ;
- En cas d'échec thérapeutique.

En présence de l'un de ces critères, il est recommandé de faire un screening test et une CMI.

**➤ Test de screening**

BHI agar + 6 µg/ml de vancomycine

Ensemencer 1 à 10 µl d'une suspension de 0.5 MF (par spot)

Incuber à 35°C ± 2 pendant 24 h

Si > 1 colonie : faire une CMI

**➤ Test de confirmation**

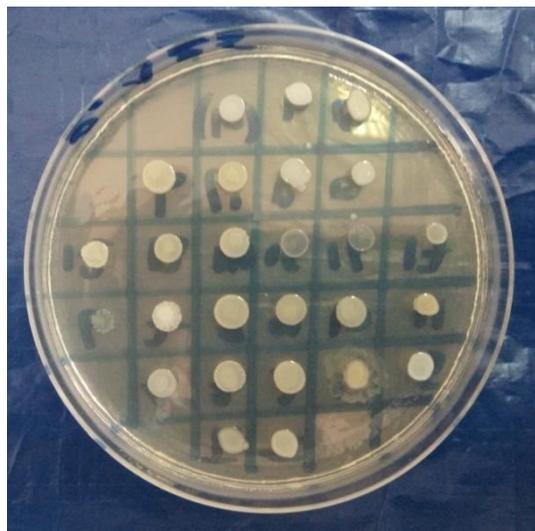
Ce test de confirmation est obligatoire devant un test de présomption et/ou de criblage positif.

Il se base sur la détermination des CMI et l'identification de l'espèce afin de distinguer les espèces ayant acquis une résistance (*Van A* et *Van B*) de celles ayant une résistance naturelle (*Van C* : *E.gallinarum*, *E.casseliflavus*). Ces dernières ne présentent pas de danger épidémique, et ne sont donc pas à signaler.

**Tableau IV:** Concentrations critiques des glycopeptides recommandées par le CLSI 2014 pour les entérocoques

Antibiotique	Concentrations critiques ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	S	I	R
Vancomycine	$\leq 4$	8 -16	$\geq 32$
Teicoplanine	$\leq 8$	16	$\geq 32$

**Contrôle de qualité :** un contrôle de qualité interne est recommandé par le CLSI 2014 afin de s'assurer de la validité des résultats obtenus pour la mesure des CMI. Les souches de référence recommandées sont *S.aureus* ATCC 25923 (sensible) et *E.faecalis* ATCC 51299 (résistante).



**Fig.13** boîte de CMI à 0,125  $\mu\text{g/ml}$  de vancomycine avec cultures apparentes au niveau des spots.

### 1.2.5. Détection des souches de *S.pneumoniae* de sensibilité diminuée aux $\beta$ -lactamines

En raison des implications thérapeutiques évidentes, la recherche pour les pneumocoques de la sensibilité diminuée aux  $\beta$ - lactamines doit être systématique.

La détection de ces souches est effectuée en plusieurs étapes qui sont :

#### ➤ Dépistage à l'oxacilline

Selon les recommandations du CLSI 2014, le disque d'oxacilline chargé à 1 $\mu$ g est utilisé pour la détection de la résistance à la pénicilline. Ce disque étant instable et de décharge rapide, il est préférable de tester en même temps le disque chargé à 5 $\mu$ g d'oxacilline.

**Tableau V** : Diamètres critiques de l'oxacilline recommandés pour la recherche de *S.pneumoniae* de sensibilité diminuée aux  $\beta$ - lactamines

Inoculum	Oxacilline 1 $\mu$ g (CLSI)		Oxacilline 5 $\mu$ g (CA-SFM)	
	0.5 MF		0.5 MF	
<b>Diamètre d'inhibition (mm)</b>	$\geq 20$	$\leq 19$	$\geq 26$	$\leq 25$
<b>interprétation</b>	Sensible à toutes les $\beta$ -lactamines	Sensibilité diminuée à la pénicilline	Sensible à toutes les $\beta$ -lactamines	Sensibilité diminuée à la pénicilline
<b>Tests complémentaires</b>	---	Détermination de la CMI de la pénicilline, amoxicilline, céfotaxime et imipénème	---	Détermination de la CMI de la pénicilline, amoxicilline, céfotaxime et imipénème

- **CMI par bandelettes E-Test** (se référer à la fiche technique n° 5)
- **Test de confirmation, par CMI en milieu liquide**

**Contrôle de qualité :** pour l'ensemble de ces tests, la souche de référence *S.pneumoniae* ATCC 49619 (CMI pénicilline : résistance intermédiaire) doit être testée dans les mêmes conditions.

**Tableau VI :** Valeurs critiques des CMI des  $\beta$ - lactamines recommandées par le CLSI 2014 pour les pneumocoques

$\beta$ - lactamine ( $\mu\text{g/ml}$ )	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
<b><i>Pénicilline parentérale</i></b>				
▪ Méningite	$\leq 0.06$	-	$\geq 0.12$	0.25-1
▪ Autre que méningite	$\leq 2$	4	$\geq 8$	
<b><i>Pénicilline orale (V)</i></b>	$\leq 0.06$	0.12-1	$\geq 2$	0.25-1
<b><i>Amoxicilline</i></b>				
▪ Autre que méningite	$\leq 2$	4	$\geq 8$	0.03-0.12
<b><i>Céfotaxime</i></b>				
▪ Méningite	$\leq 0.5$	1	$\geq 2$	0.03-0.12
▪ Autre que méningite	$\leq 1$	2	$\geq 4$	
<b><i>Imipénème</i></b>	$\leq 0.12$	0.25-0.5	$\geq 1$	0.03-0.12

## 2. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel **WHONET 5 .6** dont une brève description a été introduite en annexe ainsi que par le logiciel Microsoft office **EXCEL 2007**.

# PARTIE PRATIQUE

## RESULTATS

---

## 1. Origine des souches

### 1.1. Selon le type de prélèvement

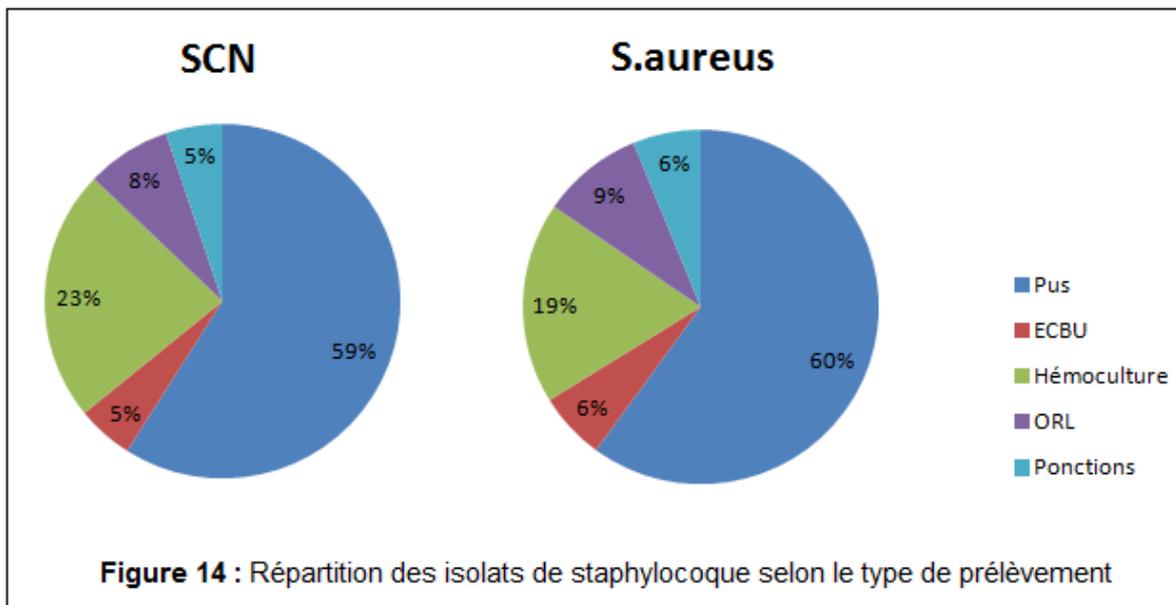
#### ❖ Pour *Staphylococcus* spp

**Tableau VII** : Répartition des isolats de staphylocoque selon le type de prélèvement

Prélèvement	SA	SCN	% SA	% SCN
Pus	39	23	60%	59%
ECBU	4	2	6%	5%
Hémoculture	12	9	18%	23%
ORL	6	3	9%	8%
Ponctions	4	2	6%	5%
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>39</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>

SA : *S.aureus*

SCN : Staphylocoques à coagulase négative



### Interprétation

Au total, 104 souches de staphylocoque ont été analysées :

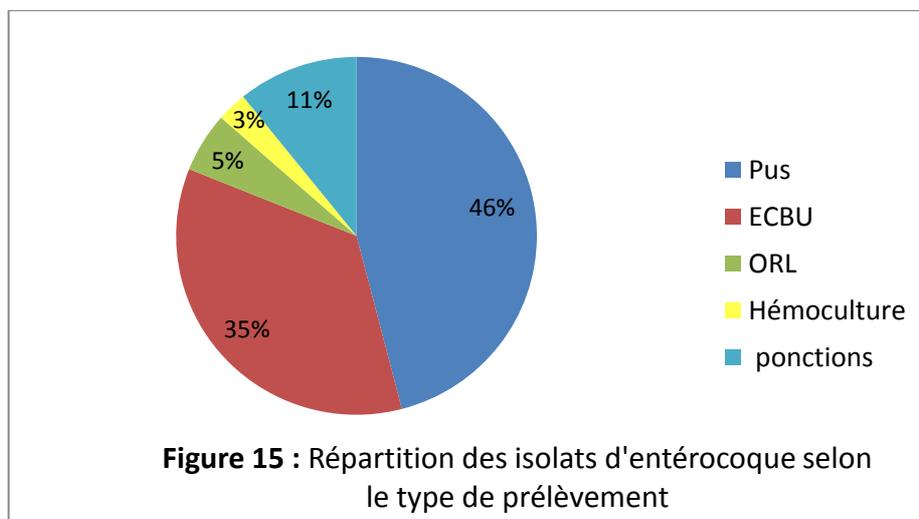
Pour les 65 *S.aureus*, 39 (60%) souches ont été isolées de suppurations diverses, 12 (18%) d'hémocultures, 6 (9%) de prélèvements de la sphère ORL, 4 (6%) de ponctions diverses, et 4 (6%) d'urines.

Pour les 39 SCN, la même tendance de distribution est observée avec 23 (59%) souches provenant de suppurations diverses, 9 (23%) d'hémocultures, 3 (8%) de prélèvements de la sphère ORL, 2 (5%) de ponctions diverses, et 2 (5%) d'urines.

#### ❖ Pour *Enterococcus spp*

**Tableau VIII** : Répartition des isolats d'entérocoque selon le type de prélèvement

Prélèvement	Nbre d'entérocoques	% d'entérocoques
Pus	17	46%
ECBU	13	35%
ORL	2	5%
Hémoculture	1	3%
ponctions	4	11%
<b>Total</b>	<b>37</b>	<b>100%</b>



### Interprétation

Sur les 37 souches d'entérocoque collectées, 17 (46%) provenaient de suppurations diverses, 13 (35%) d'urines, 4 (11%) de ponctions diverses, 2 (5%) de prélèvements de la sphère ORL, et 1 (3%) d'hémoculture.

### 1.2.Selon les spécialités cliniques

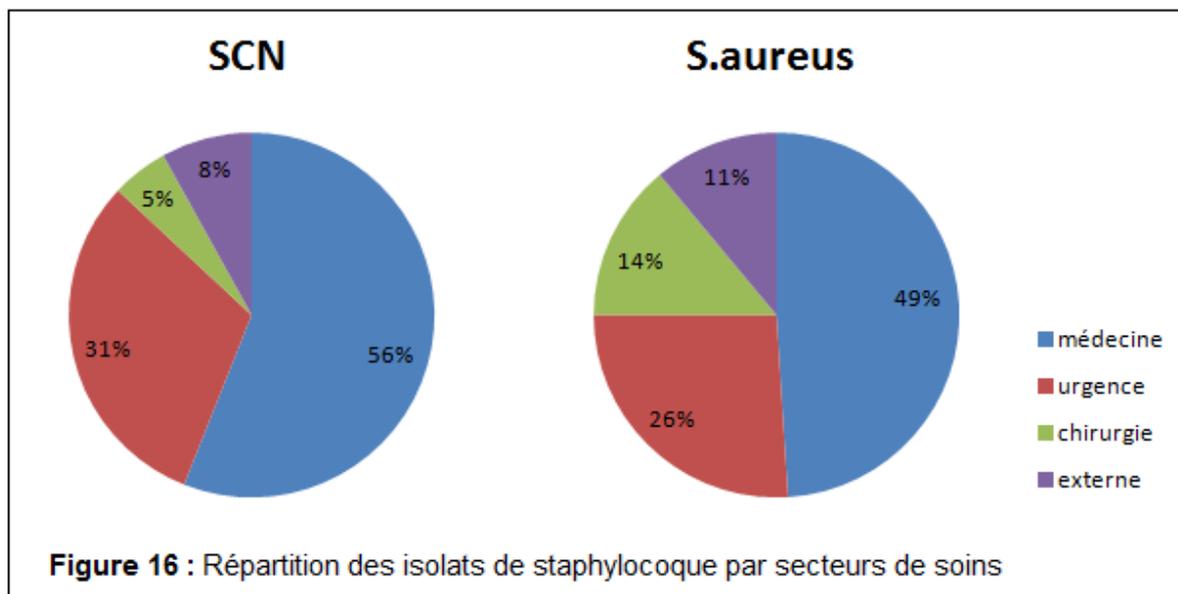
#### ❖ Pour *Staphylococcus spp*

**Tableau IX** : Répartition des isolats de staphylocoque par secteurs de soins

Service	SA	SCN	% SA	% SCN
urgence	17	12	26%	31%
chirurgie	9	2	14%	5%
médecine	32	22	49%	56%
externe	7	3	11%	8%
Total	65	39	100%	100%

SA : *S.aureus*

SCN : Staphylocoques à coagulase négative



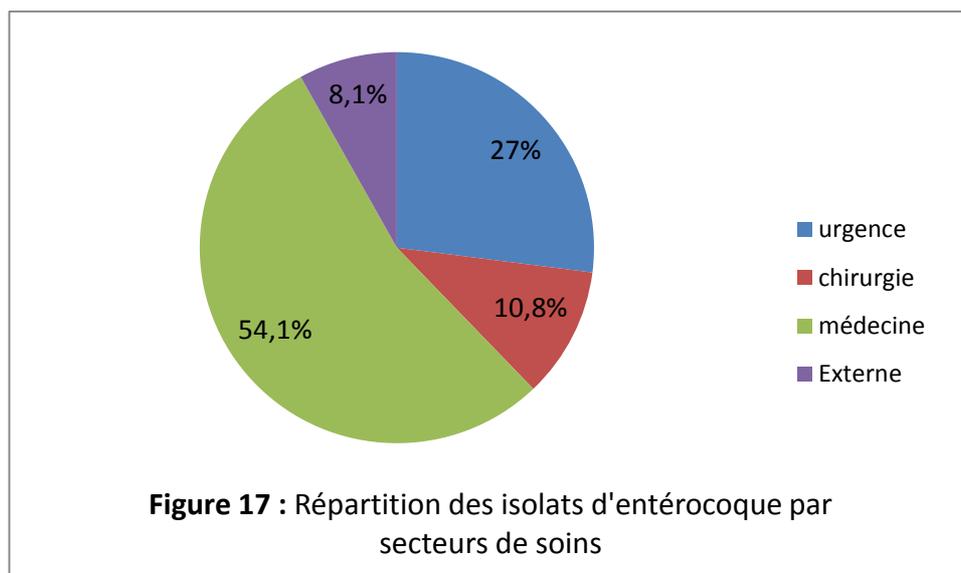
**Interprétation**

La majorité des souches de staphylocoque ont été isolées chez des patients hospitalisés. Elles provenaient majoritairement des services de médecine (49% SA et 56% SCN) suivie des services d'urgences (26% SA et 31% SCN) et de chirurgie (14% SA et 5% SCN).

Seulement 11% des SA et 8% des SCN ont été colligés à partir de consultations à titre externe.

**❖ Pour *Enterococcus spp*****Tableau X** : Répartition des isolats d'entérocoque par secteurs de soins

Service	Nbre d'entérocoques	% d'entérocoques
urgence	10	27,0%
chirurgie	4	10,8%
médecine	20	54,1%
Externe	3	8,1%
Total	37	100%



### Interprétation

54,1% des souches d'entérocoques colligées ont été isolées chez des patients accueillis dans les services de médecine, 27% aux urgences, et 10,8% dans les services de chirurgie, contre 8,1% consultants à titre externe.

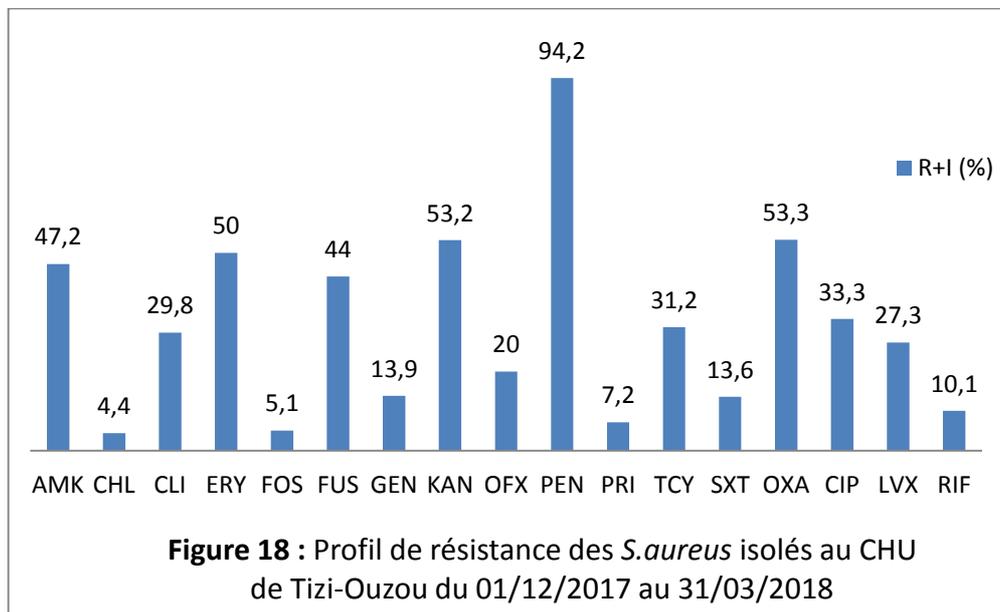
## 2. Etude de la résistance aux antibiotiques

### 2.1. Test de sensibilité aux ATB (antibiogramme)

#### ❖ Chez *S.aureus*

**Tableau XI** : Profil de résistance des *S.aureus* isolés au CHU de Tizi-Ouzou durant la période du 01/12/2017 au 31/03/2018

ATB	R+I (%)	S (%)
AMK	47,2	52,8
CHL	4,4	95,6
CLI	29,8	70,2
ERY	50	50
FOS	5,1	94,9
FUS	44	56
GEN	13,9	86,1
KAN	53,2	46,8
OFX	20	80
PEN	94,2	5,8
PRI	7,2	92,8
TCY	31,2	68,8
SXT	13,6	86,4
OXA	53,3	46,7
CIP	33,3	66,7
LVX	27,3	72,7
RIF	10,1	89,9



**AMK** : amikacine ; **CHL** : chloramphénicol ; **CIP** : ciprofloxacine ; **CLI** : clindamycine ; **ERY** : érythromycine ; **FOS** : Fosfomycine ; **FUS** : acide fusidique ; **GEN** : gentamicine ; **KAN** : kanamycine ; **LVX** : lévofloxacine ; **OFX** : ofloxacine ; **OXA** : oxacilline ; **PEN** : pénicilline ; **PRI** : pristinaamycine ; **RIF** : rifampicine ; **SXT** : sulfaméthoxazole–triméthoprime ; **TCY** : tétracycline.

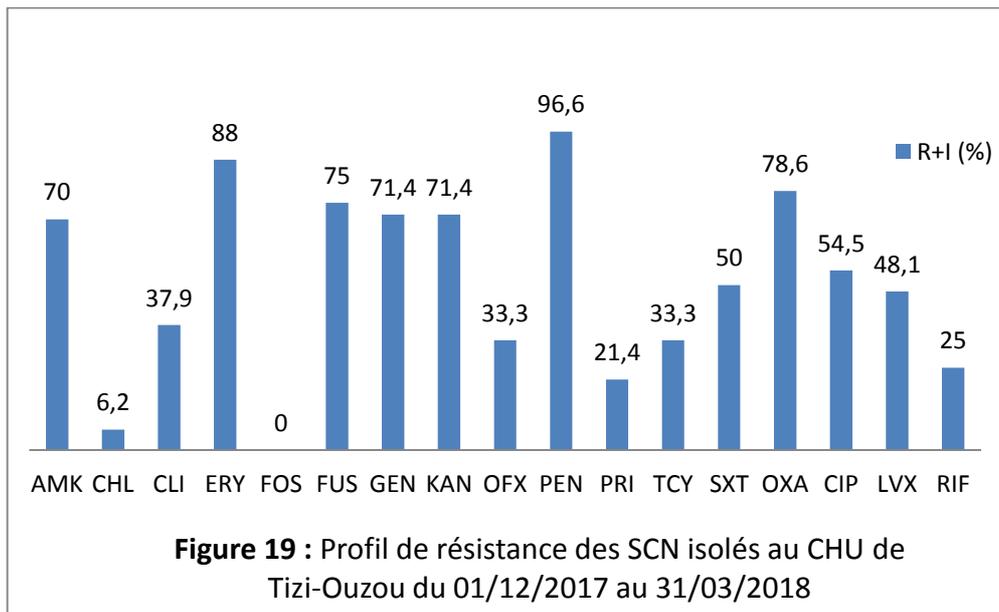
### Interprétation

Pour les 94 souches de *S.aureus* traitées par le laboratoire, les résultats de l'antibiogramme montrent une grande résistance de ces dernières vis-à-vis de la pénicilline avec un taux de 94,2%. La résistance à l'oxacilline, l'érythromycine, la kanamycine et l'amikacine est quant à elle moyenne aux environs de 50%. Les ATB les plus actifs ont été le chloramphénicol, la fosfomycine et la pristinaamycine avec respectivement des taux de résistance de 4,4% ; 5,1% et 7,2%.

## ❖ Chez les SCN

**Tableau XII** : Profil de résistance des SCN isolés au CHU de Tizi-Ouzou durant la période du 01/12/2017 au 31/03/2018

ATB	R+I (%)	S (%)
AMK	70	30
CHL	6,2	93,8
CLI	37,9	62,1
ERY	88	12
FOS	0	100
FUS	75	25
GEN	71,4	28,6
KAN	71,4	28,6
OFX	33,3	66,7
PEN	96,6	3,4
PRI	21,4	78,6
TCY	33,3	66,7
SXT	50	50
OXA	78,6	21,4
CIP	54,5	45,5
LVX	48,1	51,9
RIF	25	75



**AMK** : amikacine ; **CHL** : chloramphénicol ; **CIP** : ciprofloxacine ; **CLI** : clindamycine ; **ERY** : érythromycine ; **FOS** : Fosfomycine ; **FUS** : acide fusidique ; **GEN** : gentamicine ; **KAN** : kanamycine ; **LVX** : lévofloxacine ; **OFX** : ofloxacine ; **OXA** : oxacilline ; **PEN** : pénicilline ; **PRI** : pristinamycine ; **RIF** : rifampicine ; **SXT** : sulfaméthoxazole–triméthoprime ; **TCY** : tétracycline.

### Interprétation

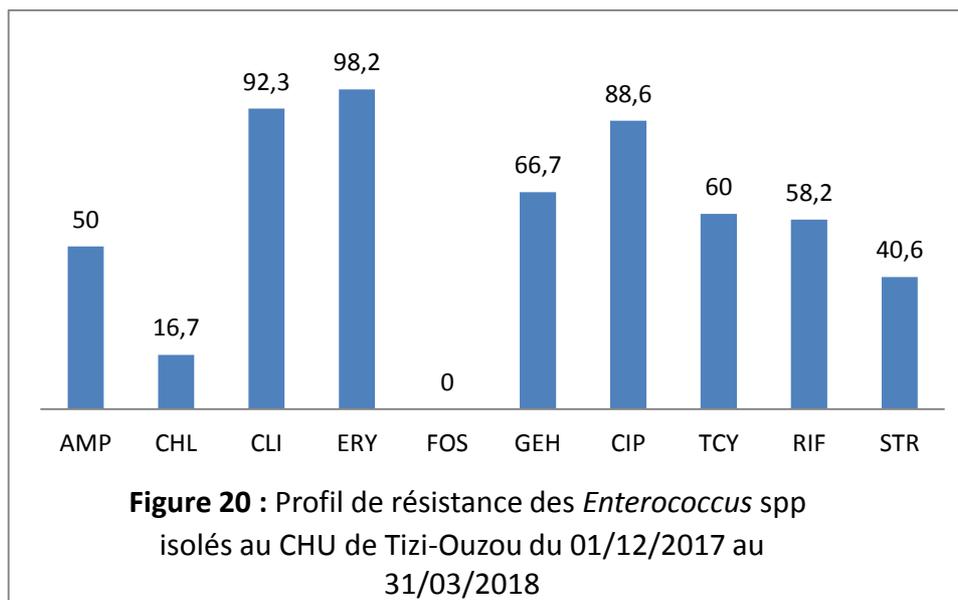
Dans le même sillage que celui des *S.aureus*, les souches de SCN sont résistantes à la pénicilline avec un taux très élevé (96,6%), suivi de l'érythromycine (88%), l'oxacilline (78,6%), l'acide fusidique (75%), la gentamicine/ kanamycine (71,4%) et l'amikacine (70%).

Une résistance moyenne est exprimée par ces souches à l'égard des quinolones (ciprofloxacine 54,5% ; lévofloxacine 48,1%), du sulfaméthoxazole (50%) et de la clindamycine (37,9%). En revanche, elles restent sensibles au chloramphénicol (6,2%) et à la fosfomycine pour laquelle aucune souche n'est revenue résistance.

## ❖ Chez les entérocoques

**Tableau XIII** : Profil de résistance des souches d'*Enterococcus* spp isolées au CHU de Tizi-Ouzou durant la période du 01/12/2017 au 31/03/2018

ATB	R+I (%)	S (%)
AMP	50	50
CHL	16,7	83,3
CLI	92,3	7,7
ERY	98,2	1,8
FOS	0	100
GEH	66,7	33,3
CIP	88,6	11,4
TCY	60	40
RIF	58,2	41,8
STR	40,6	59,4



**AMP** : ampicilline ; **CHL** : chloramphénicol ; **CIP** : ciprofloxacine ; **ERY** : érythromycine ; **FOS** : fosfomycine ; **GEH** : gentamicine haut niveau ; **RIF** : rifampicine ; **STR** : streptomycine ; **TCY** : tétracycline.

### Interprétation

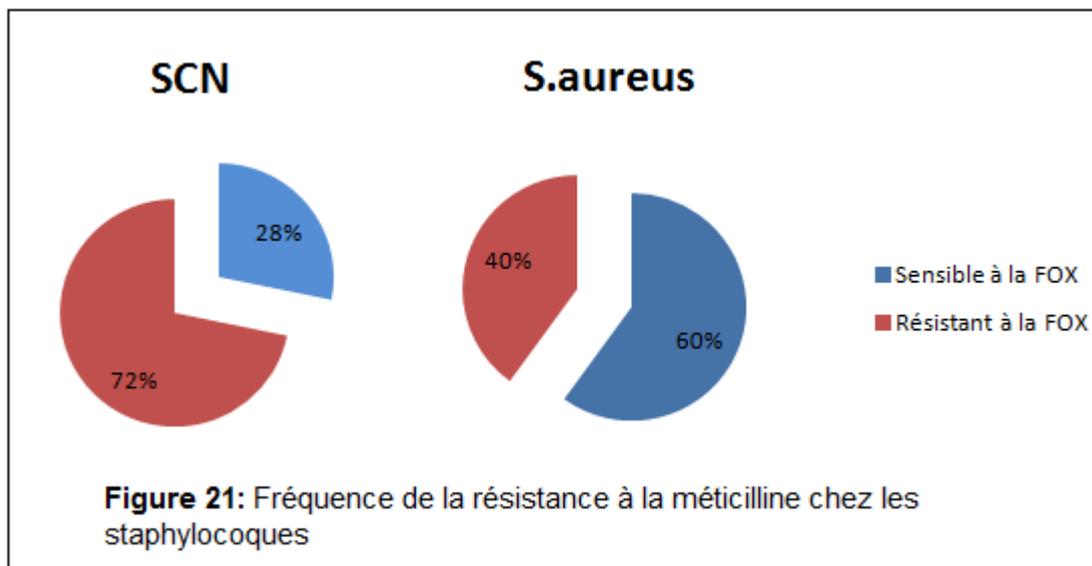
Il ressort de la figure que le profil des 80 entérocoques traités montre une résistance importante à l'érythromycine (98,2%) et à la ciprofloxacine (88,6%). Un taux de résistance de 50% est noté pour l'ampicilline, 58,2% pour la rifampicine, 60% pour les tétracyclines et 66,7% pour la gentamicine à haute concentration. Les ATB les plus actifs restent le chloramphénicol et la fosfomycine avec respectivement 16,7% et 0% de résistance.

### 2.2.Résistance du *Staphylococcus* spp à la métilcilline

**Tableau XIV :** Fréquence de la résistance à la métilcilline chez les staphylocoques

	SA	SCN	% SA	% SCN
<b>Sensible à la FOX</b>	39	11	60%	28%
<b>Résistant à la FOX</b>	26	28	40%	72%
<b>Total</b>	65	39	100%	100%

FOX : céfoxitine



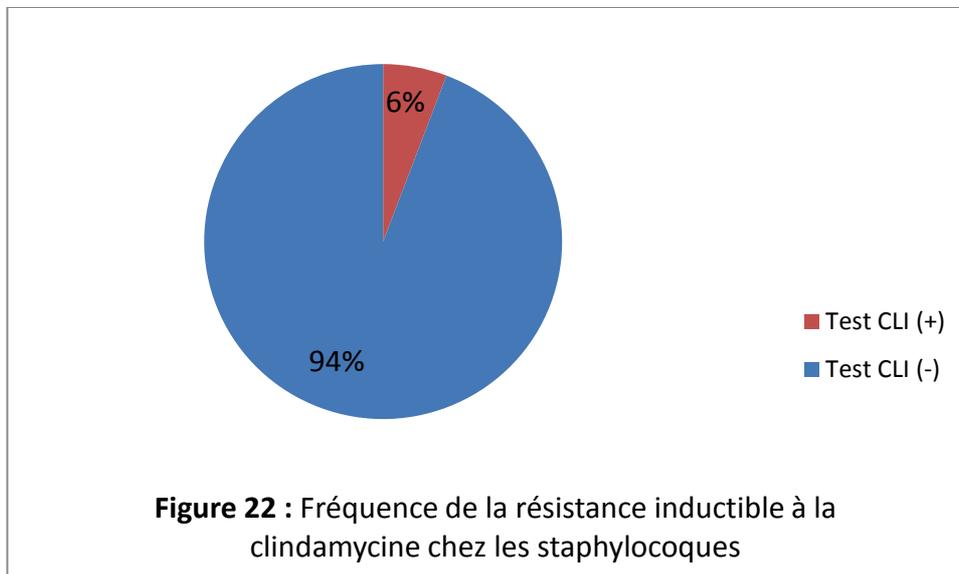
### Interprétation

Le taux de résistance à la méticilline est de 40 % pour les isolats de *Staphylococcus aureus* ce qui correspond à 26 souches, et de 72 % (28 souches) pour les isolats de staphylocoques à coagulase négative.

### 2.3. Résistance inducible à la clindamycine

**Tableau XV :** Fréquence de la résistance inducible à la clindamycine chez les staphylocoques

	Nbre de staphylocoques	% de staphylocoques
Test CLI (+)	6	6%
Test CLI (-)	98	94%
Total	104	100%



### Interprétation

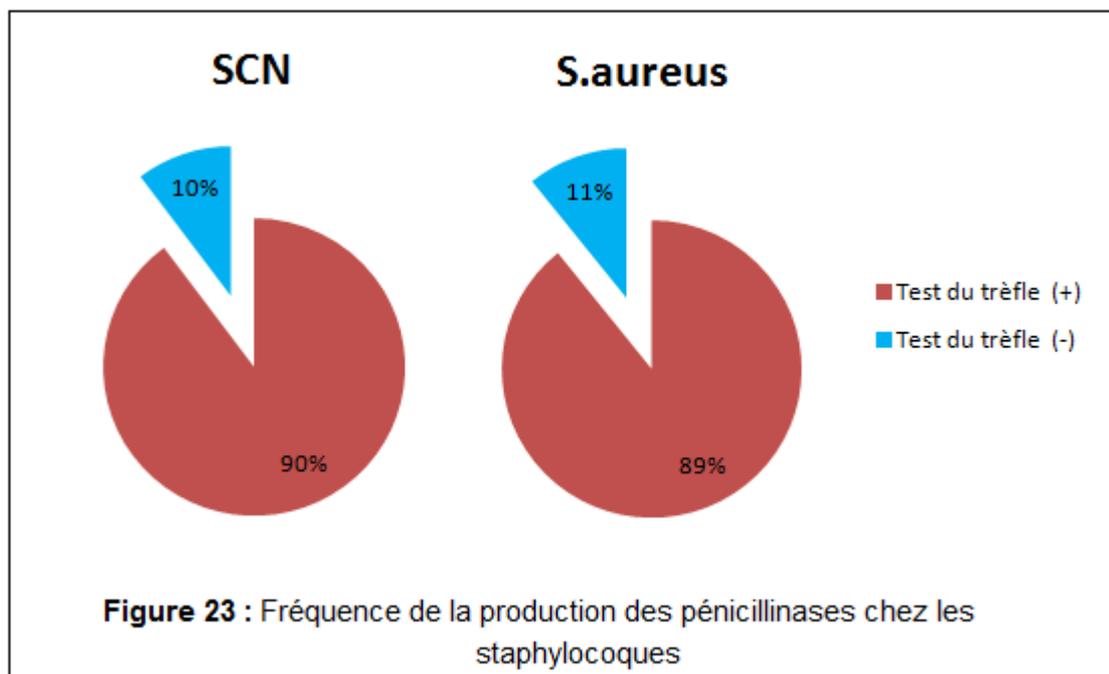
Parmi les 104 isolats de *Staphylococcus* spp, seules 6 souches ont présentées une résistance inductible à la clindamycine soit un taux de 6%.

### 2.4.Résistance par sécrétion de pénicillinase

#### ❖ Chez *Staphylococcus* spp

**Tableau XVI :** Fréquence de la production des pénicillinases chez les staphylocoques

	SA	SCN	% SA	% SCN
Test du trèfle (+)	58	35	89%	90%
Test du trèfle (-)	7	4	11%	10%
Total	65	39	100%	100%

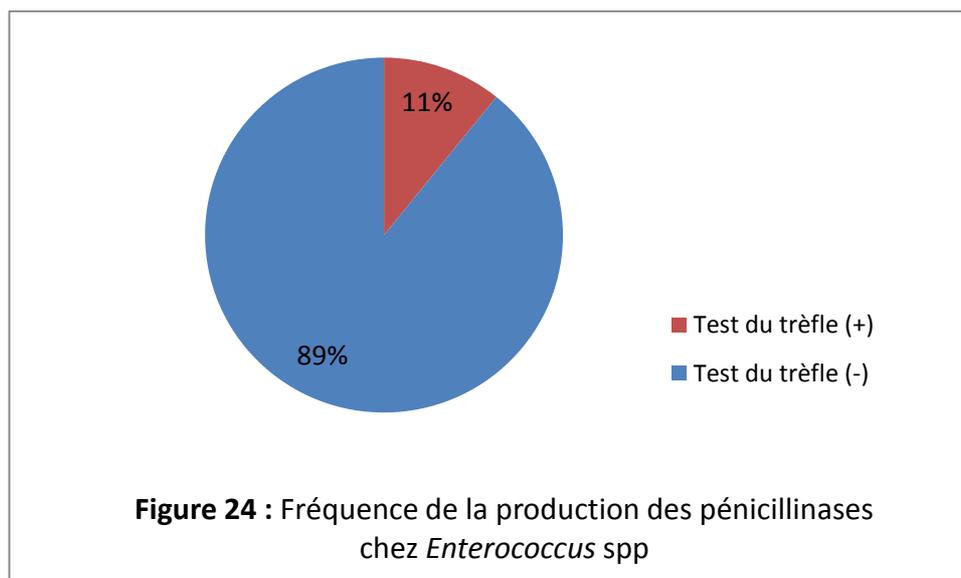


**Interprétation**

La majorité des staphylocoques ont présentés un test du trèfle positif avec un taux de 89% pour le *S.aureus* et 90% pour les SCN.

**❖ Chez *Enterococcus* spp****Tableau XVII :** Fréquence de la production des pénicillinases chez *Enterococcus* spp

	Nbre d'entérocoques	% d'entérocoques
Test du trèfle (+)	4	11%
Test du trèfle (-)	33	89%
Total	37	100%

**Interprétation**

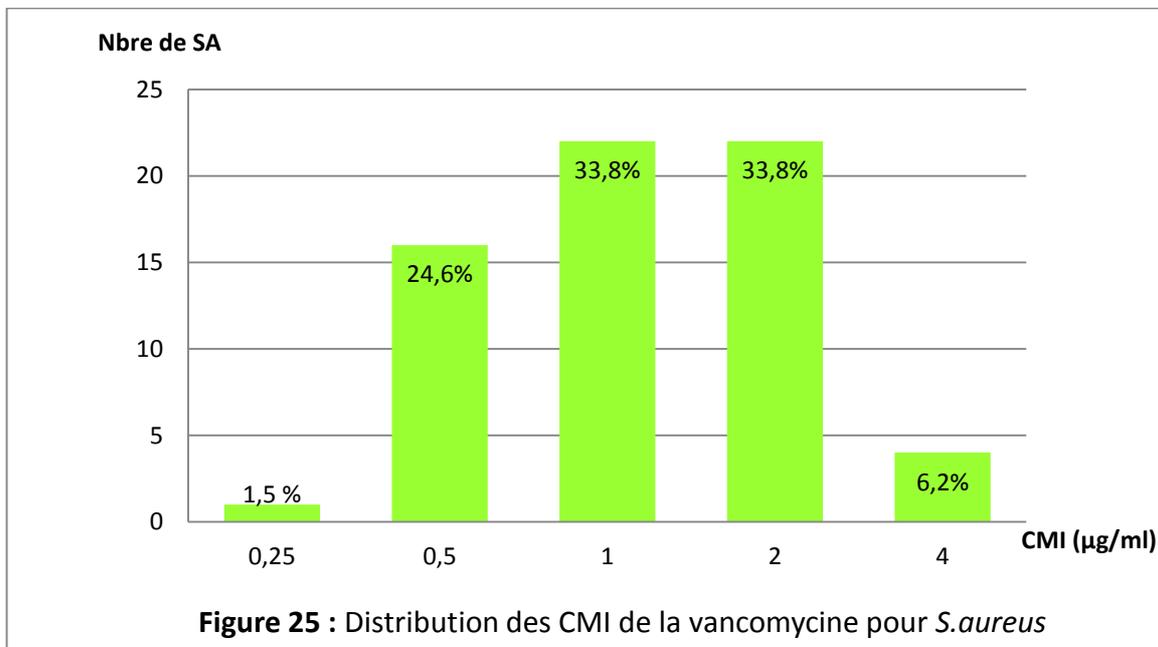
Pour les entérocoques, 33/37 souches (89%) ont montrées un test du trèfle négatif contre 4 souches seulement (11%) présentant un test du trèfle positif.

## 2.5.Résistance aux glycopeptides

### ❖ Chez *S.aureus*

**Tableau XVIII :** Distribution des CMI de la vancomycine pour *S.aureus*

Catégorie	S				I	Total
	0,25	0,5	1	2	4	
CMI	0,25	0,5	1	2	4	Total
Nbre de SA	1	16	22	22	4	65
% de SA	1,5%	24,6%	33,8%	33,8%	6,2%	100%
% total par catégorie	93,7%				6,2%	100%



### Interprétation

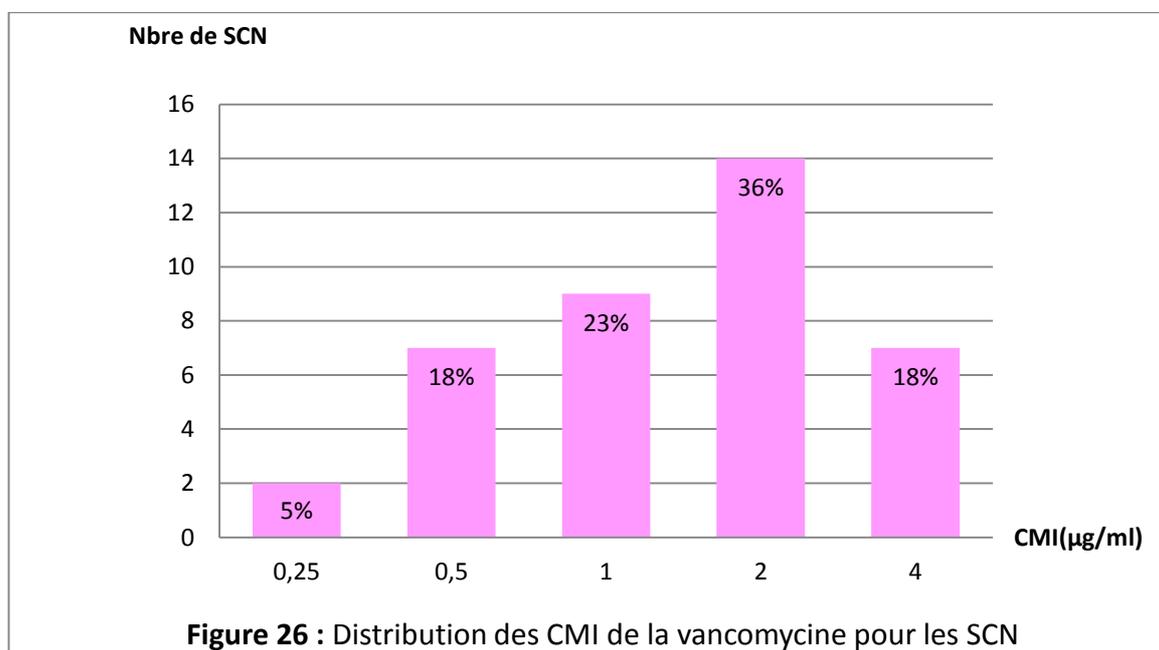
Les CMI de la vancomycine pour *S.aureus* se dispersent pour la plupart de 0,5 à 2 µg/ml, avec une seule souche à 0,25 µg/ml et 4 souches à 4 µg/ml.

93,7% des *S.aureus* sont donc sensibles à la vancomycine tandis que 6,2% sont catégorisés intermédiaires.

## ❖ Chez les SCN

Tableau XIX : Distribution des CMI de la vancomycine pour les SCN

Catégorie	S					Total
	0,25	0,5	1	2	4	
CMI	0,25	0,5	1	2	4	
Nbre de SCN	2	7	9	14	7	39
% de SCN	5%	18%	23%	36%	18%	100%

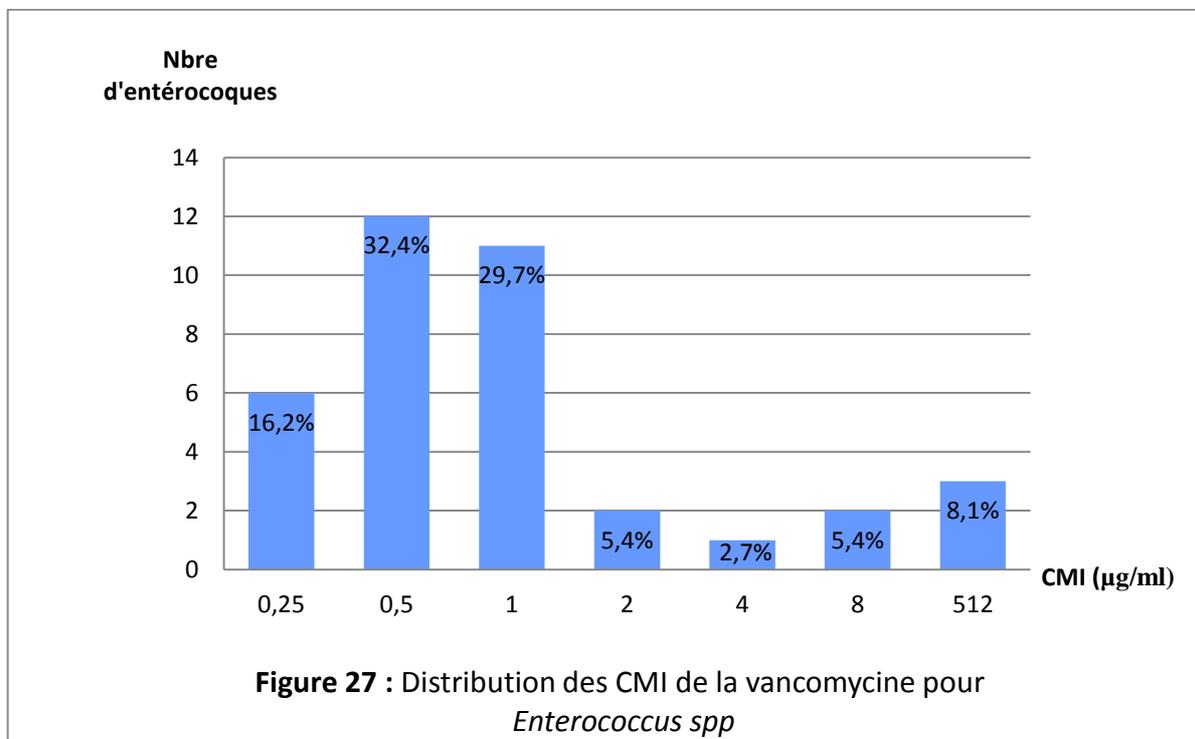
**Interprétation**

Les CMI de la vancomycine pour les SCN s'échelonnent de 0,25 à 4 µg/ml. La CMI modale étant de 2 µg/ml.

Aucun isolat de SCN n'est donc de sensibilité diminuée à la vancomycine.

❖ Chez *Enterococcus spp*Tableau XX : Distribution des CMI de la vancomycine pour *Enterococcus spp*

Catégorie	S					I	R	Total
CMI	0,25	0,5	1	2	4	8	512	
Nbre d'entérocoques	6	12	11	2	1	2	3	37
% d'entérocoques	16,2%	32,4%	29,7%	5,4%	2,7%	5,4%	8,1%	100%
% total par catégorie	86,4%					5,4%	8,1%	100%

**Interprétation**

Parmi les 37 isolats d'entérocoques, seules 2 souches ont présentées une CMI à la vancomycine de 8 µg/ml (sensibilité intermédiaire) et 3 souches à 512 µg/ml (résistantes).

Le taux de sensibilité à la vancomycine pour les entérocoques est donc de 86,4% contre 5,4% de sensibilité intermédiaire et 8,1% de résistance.

**2.6.Sensibilité diminuée aux  $\beta$ -lactamines chez *S.pneumoniae***

Deux (02) souches de pneumocoque de sensibilité diminuée aux pénicillines (PSDP) ont été isolées chez des patients consultants à titre externe. Leur diamètres à l'oxacilline étaient respectivement **OXA1=06** et **OXA5=22**.

La fragilité du germe, nous nous a pas permis d'avoir une culture après réisolement. C'est pourquoi les tests complémentaires n'ont pas pu être réalisés.

# PARTIE PRATIQUE

## DISCUSSION

---

### Limites et biais

Le manque de moyens est la contrainte majeure à signaler pendant notre période d'étude :

- A défaut de l'indisponibilité du milieu BHI agar, le test de screening n'a pas pu être réalisé (les CMI pour les entérocoques ont été effectuées d'emblé) ;
- Les CMI à la teicoplanine n'ont pas été faites par manque d'antibiotique ;
- L'identification biochimique des entérocoques résistants et intermédiaires à la vancomycine n'a pas été réalisée par manque de la galerie API 20 Strep ;
- Pour les 2 souches de pneumocoques isolées, seul un disque d'oxacilline a été testé.

L'autre difficulté rencontrée concerne la récolte des souches, puisque plusieurs d'entre elles ont été perdues.

### Discussion générale

Au terme de cette étude ; qui s'est proposée d'évaluer le niveau de résistance aux ATB des cocci Gram positif au CHU de Tizi-Ouzou ; il ressort que le staphylocoque et l'entérocoque sont des germes retrouvés majoritairement au niveau des services de médecine et d'urgence, avec des prévalences plus marquées pour la réanimation, l'hématologie et le service de néphrologie-hémodialyse notamment à cause du profil polypathologique des patients de ces unités et des procédures invasives qu'ils subissent.

Nos résultats montrent que 90% des souches de staphylocoque sont productrices de pénicillinases ce qui est en accord avec les données de la littérature. La pénicilline G reste donc l'antibiotique le moins actif vis-à-vis de ces souches quelles soient pathogènes ou non [39].

40% des SA sont revenus résistants à la méticilline, taux qui est stable comparativement à celui enregistré en 2017 au niveau du CHU de Tizi-Ouzou. Ce chiffre reste élevé par rapport à celui publié par l'AARN pour l'année 2015 puisqu'il était question de 28,16% de SARM [40]. Ce pourcentage reste néanmoins plus élevé que celui trouvé dans les pays frontaliers

puisque la Tunisie et le Maroc affichent une prévalence de 19%, et plus élevé encore que dans les pays nordiques comme la Suède ou le Danemark où le pourcentage de SARM est resté très bas (< 5%) [41].

Le taux de SCNMR est de 72%, chiffre plus élevé que celui obtenu lors d'une étude réalisée dans le service de réanimation de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed-V à Rabat ou une résistance de 60,24% a été signalée [42].

Outre la résistance à la méticilline, il est à constater que la résistance croisée à d'autres classes d'antibiotiques (aminosides, macrolides et quinolones) est très fréquente ce qui complique la prise en charge thérapeutique. Les taux de cette résistance enregistrés pour les SCN sont plus importants que ceux des SA avec comme valeurs 70% versus 47,2% pour l'amikacine, 71,4% versus 53,2% pour la kanamycine, 54,5% versus 33,3% pour la ciprofloxacine, 48,1% versus 27,3% pour la lévofloxacine et 88% versus 50% pour l'érythromycine.

Le profil de résistance des SA est assez stable par rapport à celui de l'année 2017 mais un accroissement rapide de la résistance aux aminosides est à signaler. En effet, la résistance à l'amikacine est passée de 19,2% à 47,2% et celle de la kanamycine de 19,2% à 53,2%.

6% de staphylocoques ont exprimés une résistance inductible à la clindamycine, taux qui n'a pas pu être comparé par manque de données dans la littérature.

La multirésistance de nombreux staphylocoques aboutissant à la prescription des glycopeptides comme dernier recours pourrait justifier l'émergence de souches de moindre sensibilité à cette famille d'antibiotiques.

Dans notre établissement, 6,2% des SA étudiés présentent une sensibilité diminuée à la vancomycine mais aucune souche n'y est résistante. Les SCN présentent aussi 100% de sensibilité ce qui est concordant avec les résultats de l'EUCAST 2011 puisqu'il était question d'une résistance de 3‰ pour les SA et de 16‰ pour les SCN [45].

Pour ce qui est des entérocoques, 11% ce sont révélés producteurs de pénicillinases. Cette proportion est élevée comparativement aux résultats de 02 études menées au Koweït (2002) et en Turquie (2005) puisque aucune d'elles n'a rapporté de résistance de ce type [43,44].

---

Du point de vue de la sensibilité aux antibiotiques, une augmentation rapide de la résistance des entérocoques à l'ampicilline et à la gentamicine a été constatée comparativement aux résultats cités dans le 16<sup>ème</sup> rapport d'évaluation de l'AARN (de janvier à décembre 2015) puisque la résistance à l'AMP est passée de 23,7% à 50% et celle de la GEH de 23,8% à 66,7% [40].

Des taux alarmants de 88,6% de résistance à la ciprofloxacine et de 98,2% à l'érythromycine sont aussi à signaler d'autant plus que peu d'ATB restent actifs contre ce germe déjà aux multiples résistances natives.

Par ailleurs et eu égard des résultats obtenus, il ressort que les CMI à la vancomycine sont en augmentation puisque 5,4% des entérocoques étudiés y sont de sensibilité intermédiaire et 8,1% y sont résistants. La fréquence des ERV a donc augmentée de 5% par rapport à l'année 2017 pour le CHU de Tizi-Ouzou mais reste similaire aux données de l'AARN 2015 qui affichent 8,69% d'ERV [40].

Que se soit sur les staphylocoques ou sur les entérocoques, la fosfomycine et le chloramphénicol restent les ATB les plus actifs, fait qui pourrait être expliqué par l'indisponibilité de ces molécules au niveau du CHU de Tizi-Ouzou depuis quelques années déjà. Ils constituent donc à notre niveau des antibiotiques dits « de réserve ».

Quant à la description de l'état actuel des résistances pour le pneumocoque, le manque de souches a été à l'encontre du développement de cette partie de l'étude.

# CONCLUSION

---

## CONCLUSION

---

A la suite de cette étude, il ressort que la multirésistance des bactéries cocci Gram positives reste un problème d'actualité et un sujet de préoccupation légitime. L'émergence dans notre établissement de souches VISA et d'ERV avec tous ce que cela implique en termes de conséquences financières, humaines et organisationnelles doit nous inciter à mettre en place une stratégie active et efficace afin d'enrayer la diffusion de ces BMR.

Le succès de cette stratégie suppose une étroite collaboration entre les cliniciens, les hygiénistes et les microbiologistes et une révision par tous les prestataires de soins de leurs pratiques quotidiennes, notamment par l'usage rationnel des ATB et la prévention de la transmission croisée par l'amélioration des conditions d'hygiène.

Pour l'essentiel, il s'agit de mesures de prévention valables pour l'ensemble des agents infectieux dont l'application minutieuse aura comme répercussion la réduction, en parallèle, de la prévalence d'autres bactéries aussi dangereuses comme les entérobactéries sécrétrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (EBLSE).

Quant à la rationalisation de l'utilisation des ATB, elle ne peut se faire que par la tenue rigoureuse de statistiques locales concernant la sensibilité de ces germes. C'est pourquoi une surveillance épidémiologique permanente est plus que jamais nécessaire.

Cette surveillance devrait être axée non seulement sur la réalisation de l'antibiogramme mais aussi sur des tests complémentaires phénotypiques. L'importance de ces derniers à déceler des résistances qui sont passées inaperçues au test standard de sensibilité étant l'un des points majeurs soulignés par ce travail.

# ANNEXES

---

## ANNEXES

---



**Annexe 1 :** Atteintes cutanéomuqueuses staphylococciques [6].

## ANNEXES

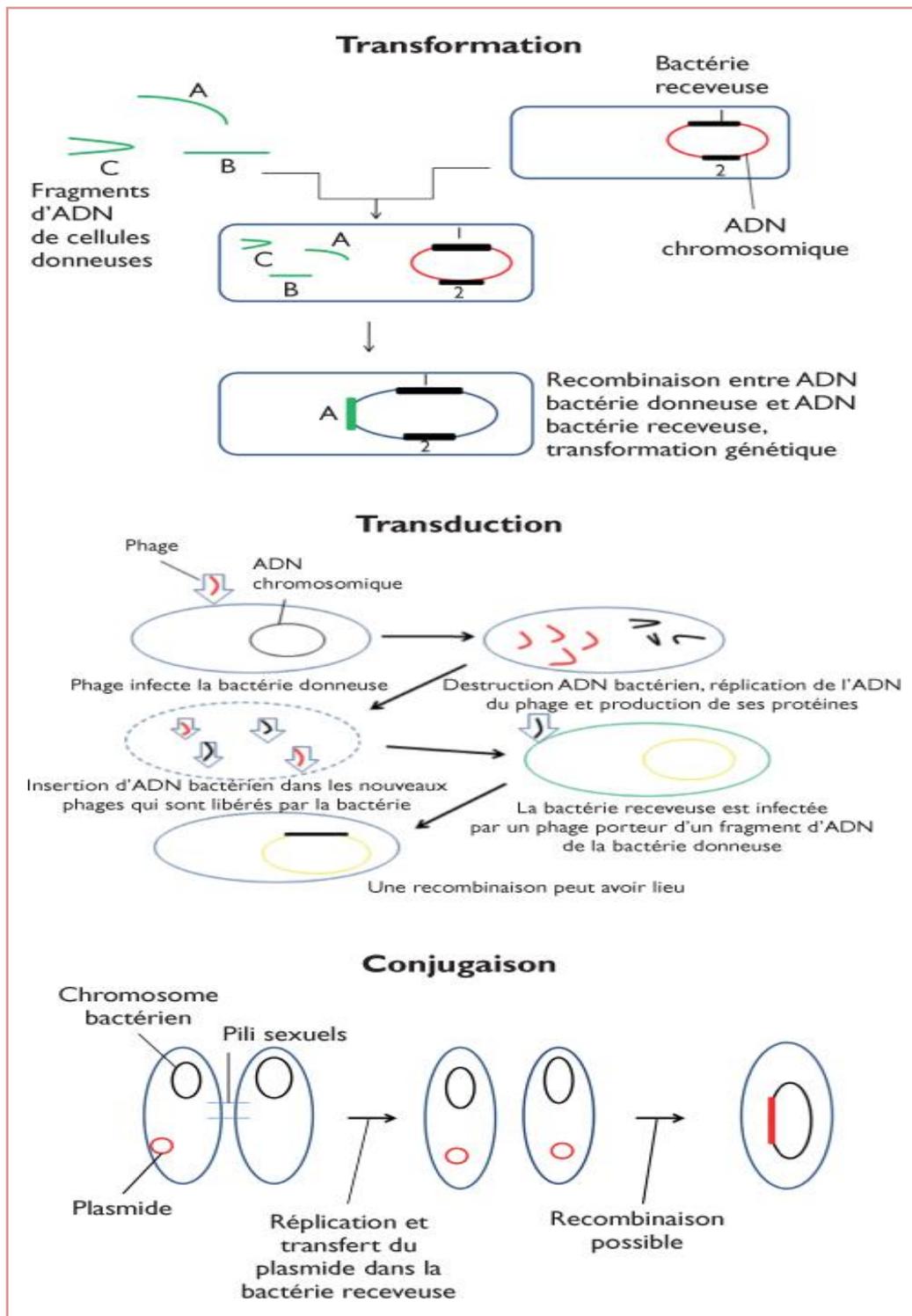
---



- A:** Otite moyenne aigue purulente  
**B:** Pneumonie chez un enfant sur cliché thoracique de face  
**C:** Erysipèle à *Streptococcus pneumoniae*  
**D:** Ostéoarthrite à pneumocoque chez le nouveau-né

**Annexe 2 :** Infections dues à *Streptococcus pneumoniae* [46].

## ANNEXES



Annexe 3 : Mécanismes génétiques de dissémination de la résistance aux antibiotiques [9].

## ANNEXES

### Annexe 4 : Classification des antibiotiques par famille [47].

<b>β-lactamines</b>	Pénicillines	Pénicillines du groupe A	Amoxicilline Ampicilline
		Pénicillines du groupe G et V	Benzylpénicilline Phénoxyéthylpénicilline
		Pénicillines du groupe M	Oxacilline Cloxacilline Méticilline
		Carboxypénicillines	Carbénicilline Ticarilline
		Uréidopénicillines	Azlocilline Mezlocilline Pipéracilline
		Amidinopénicillines	Pivmécillinam
	Céphalosporines	Céphalosporines de 1 <sup>ère</sup> génération (C1G)	Céfalexine Céfaloridine Céfalotine Céfazoline
		Céphalosporines de 2 <sup>ème</sup> génération (C2G)	Céfamandole Céfoxitine Céfuroxime
		Céphalosporines de 3 <sup>ème</sup> génération (C3G)	Céfixime Céfépime Céfotaxime Céftazidime Cefpirome Céftriaxone Céfoperazone
	Carbapénèmes		Imipénème Ertapénème Méropénème
	Monobactames		Aztréonam
	<b>Glycopeptides</b>		Vancomycine Teicoplanine
	<b>Polymixines</b>		Colistine
<b>Aminosides</b>		Amikacine Kanamycine Nétilmicine Gentamicine Tobramycine Spectinomycine Streptomycine Néomycine	

## ANNEXES

<b>Cyclines</b>			Tétracycline Doxycycline Tigécycline
<b>Macrolides et apparentés</b>	Macrolides vrais	à 14 atomes	Clarithromycine Erythromycine Roxithromycine
		à 15 atomes	Azithromycine
		à 16 atomes	Josamycine Spiramycine
	Lincosamides		Clindamycine Lincomycine
	Kétolides		Télithromycine
	Synergistines (streptogramines)		Pristinamycine Virginamycine
<b>Phénicolés</b>			Chloramphénicol Thiamphénicol
<b>Oxazolidinones</b>			Linézolide
<b>Quinolones</b>		Quinolones de 1 <sup>ère</sup> génération	Acide pipémidique Acide nalidixique Fluméquine
		Fluoroquinolones	Énoxacine Loméfloxacin Norfloxacin Ciprofloxacin Ofloxacin Péfloxacin Lévofoxacin
<b>Sulfamides et associés</b>			Sulfadiazine Sulfaméthoxazole Sulfaméthoxazole + triméthoprime
<b>Nitrofuranes</b>			Nitrofurantoïne Nifuroxazide
<b>Autres</b>			Acide fusidique Rifampicine Fosfomycine

### Annexe 5

#### Fiche technique n°1 : réalisation de l'antibiogramme [30].

➤ Objectif :

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

➤ Technique :

- **Milieu** : Mueller-Hinton simple pour *Staphylococcus* spp et *Enterococcus* spp et Mueller-Hinton additionné de 5% sang de mouton pour *S.pneumoniae*.
- **Inoculum** : 2 à 3 colonies bien isolées parfaitement identiques sont prélevées à partir d'une culture pure de 18-24 h sur milieu d'isolement approprié et mises en suspension dans un tube de 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée au vortex, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une DO de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

L'inoculum bactérien doit êtreensemencé dans les 15 mn qui suivent sa préparation.

- **Ensemencement** :
  - Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
  - L'essorer en 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.

## ANNEXES

- **Application des disques :**

Les disques d'ATB sont appliqués à l'aide d'une pince bactériologique stérile en appuyant légèrement; puis incubés pendant 18-24h à  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  en atmosphère ordinaire pour *Staphylococcus* spp et *Enterococcus* spp et sous 5% de  $\text{CO}_2$  pour *S.pneumoniae*.

Les disques doivent être distants entre eux de 3cm et de 1cm du bord de la boîte.

Liste des antibiotiques à tester :

<b><i>Staphylococcus</i> spp</b>	<b><i>Enterococcus</i> spp</b>	<b><i>S. pneumoniae</i></b>
Pénicilline (10UI)	Ampicilline (10 $\mu\text{g}$ )	Pénicilline (CMI)
Oxacilline (CMI seulement)	Gentamicine (120 $\mu\text{g}$ )	Oxacilline (1 $\mu\text{g}$ )
Céfoxitine (30 $\mu\text{g}$ )	Streptomycine (300 $\mu\text{g}$ )	Amoxicilline pour autre que LCR (CMI)
Amikacine (30 $\mu\text{g}$ )	Erythromycine (15 $\mu\text{g}$ )	Céfotaxime (CMI)
Gentamicine (10 $\mu\text{g}$ )	Furanes (300 $\mu\text{g}$ )	Imipenème(CMI)
Kanamycine (30 $\mu\text{g}$ )	Tétracycline (30 $\mu\text{g}$ )	Erythromycine (15 $\mu\text{g}$ )
Erythromycine (15 $\mu\text{g}$ )	Vancomycine (30 $\mu\text{g}$ )	Clindamycine (2 $\mu\text{g}$ )
Clindamycine (2 $\mu\text{g}$ )	Teicoplanine (30 $\mu\text{g}$ )	Quinopristine-daflopristine (15 $\mu\text{g}$ )
Pristinamycine (15 $\mu\text{g}$ )/ Quinopristine- daflopristine (15 $\mu\text{g}$ )	Ciprofloxacine (5 $\mu\text{g}$ )	Chloramphénicol (30 $\mu\text{g}$ )
Ofloxacine (5 $\mu\text{g}$ )	Lévofloxacine (5 $\mu\text{g}$ )	Rifampicine (5 $\mu\text{g}$ )
Ciprofloxacine (5 $\mu\text{g}$ )	Rifampicine (5 $\mu\text{g}$ )	Triméthoprim + Sulfaméthoxazole (1.25/23.75 $\mu\text{g}$ )
Lévofloxacine (5 $\mu\text{g}$ )	Fosfomycine (200 $\mu\text{g}$ )	Vancomycine (30 $\mu\text{g}$ )
Chloramphénicol (30 $\mu\text{g}$ )	Quinopristine- daflopristine (15 $\mu\text{g}$ )	Lévofloxacine (5 $\mu\text{g}$ )
Vancomycine (CMI seulement)	Chloramphénicol (30 $\mu\text{g}$ )	Doxycycline (30 $\mu\text{g}$ )
Teicoplanine (30 $\mu\text{g}$ )	Tigécycline (CMI)	Fosfomycine (50 $\mu\text{g}$ )
Rifampicine (5 $\mu\text{g}$ )		Gémifloxacine (5 $\mu\text{g}$ )
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole (1.25/23.75 $\mu\text{g}$ )		
Tétracycline (30 $\mu\text{g}$ )		
Acide fusidique (10 $\mu\text{g}$ )		
Fosfomycine (IV)		

## ANNEXES

---

➤ 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 petri fermée. Par contre, sur MH au sang les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de petri ouverte et bien éclairée.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I).

## ANNEXES

### Annexe 6

**Fiche technique n° 2** : Détection de la résistance inductible à la clindamycine par la méthode de diffusion des disques [30].

Technique	Diffusion des disques	
Bactéries	<i>Staphylococcus</i> spp	Streptocoques $\beta$ -hémolytiques <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Milieu	Gélose MH	Gélose MH ou TSA additionnés de 5% de sang de mouton
Concentration d'antibiotique	Disques ERY (15 $\mu$ g) et CLI (2 $\mu$ g) espacés de 15 à 26 mm	Disques ERY (15 $\mu$ g) et CLI (2 $\mu$ g) espacés de 12mm
Inoculum	0,5 MF ou inoculum riche à partir d'une culture pure	0,5 MF
Conditions d'incubation	35 $\pm$ 2°C ; atmosphère ordinaire	35 $\pm$ 2°C ; 5% CO <sub>2</sub>
Durée d'incubation	16-18 heures	20-40 heures
Contrôle de qualité	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
Résultats et interprétation	-Aplatissement de la zone d'inhibition adjacente au disque d'ERY (D-zone)= résistance inductible à la CLI. -Fine culture dans la zone d'inhibition autour du disque de CLI=résistance à la CLI même en l'absence de D-zone apparente.	
Rendu des résultats et commentaires	Les souches présentant une résistance inductible à la CLI doivent être interprétées CLI Résistantes. Un commentaire peut être inclus : «Cet isolat est présumé résistant sur la base de la détection de la résistance inductible à la CLI».	

## ANNEXES

---

### Annexe 7

#### Fiche technique n°3 : Recherche de la $\beta$ -lactamase (test du trèfle) [30].

- Objectif :

La recherche de la sécrétion d'une pénicillinase.
  
- Matériel :
  - Souches de référence :
    - ✚ *S. aureus* ATCC 25923 sensible à la pénicilline
    - ✚ *S. aureus* ATCC 43300 résistante à la pénicilline
  - Souche à tester
  - Gélose MH
  - Disque de pénicilline G ou ampicilline
  
- Technique :
  - ❖ Ensemencer une souche de *S. aureus* ATCC 25923 sur une gélose MH
  - ❖ Appliquer un disque de pénicilline G au centre de la boîte dans le cas d'un *Staphylococcus* spp ou un disque d'ampicilline dans le cas d'*Enterococcus* spp
  - ❖ 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 24h à 35°C en atmosphère normale.
  
- Lecture :

La production de  $\beta$ -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 ou de pénicilline.

### Annexe 8

**Fiche technique n° 4 : Détermination de la CMI par la technique de dilution en gélose [30].**

a) Milieu de culture :

- Milieu Muller-Hinton en gélose
- Il est liquéfié par ébullition puis maintenu à la température de surfusion (45°C) jusqu'au moment de l'emploi.
- Il peut être supplémenté en sang frais ou autres en fonction des micro-organismes testés.

b) Préparation des boîtes de dilutions d'antibiotiques :

- Peser 51,20 mg de poudre titrée d'antibiotique. Diluer dans le volume de solvant approprié pour obtenir une concentration stock de 5120 µg/ml (solution- mère).
- Procéder aux dilutions semi-logarithmiques de raison 2 (de demi en demi), dans le solvant approprié, jusqu'à la concentration finale de 0,125 µg/ml.
- Répartir 2 ml de chaque dilution d'antibiotique dans la boîte correspondante en procédant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée. Ne pas changer de pipette.
- Compléter chaque boîte avec 18 ml de milieu MH liquéfié et homogénéiser délicatement, sans faire de bulle, le contenu des boîtes par des mouvements circulaires. La dilution obtenue (1/10<sup>ème</sup>) dans chaque boîte aboutit à une concentration finale allant de 512 µg/ml à 0,125 µg/ml. La gamme de dilution peut être étendue selon les valeurs souhaitées.
- Préparer une boîte témoin sans antibiotique en remplaçant le volume d'antibiotique par le même volume d'eau physiologique.
- Après solidification, sécher les boîtes, couvercle en place, pendant 30 mn.

c) Préparation de l'inoculum bactérien :

- Préparer un inoculum standard à une turbidité de 0,5 MF, ce qui correspond à 10<sup>8</sup> -2.10<sup>8</sup> CFU/ml en moyenne. Utiliser l'eau physiologique à 0,9% pour la préparation de la suspension directe à partir d'une culture jeune de la bactérie à tester.
- Déposer à la surface de la gélose, 10<sup>4</sup>CFU/ml par spots de 5-8mm.

## ANNEXES

---

### d) Dépôt des spots bactériens :

- Déposer les spots dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum.
- Marquer la boîte de dilution d'antibiotique pour localiser et identifier chaque spot.
- Appliquer chaque spot sur la gélose, en utilisant une anse calibrée.
- Commencer par la boîte témoin, puis déposer les spots sur les différentes boîtes en allant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée. Terminer en appliquant les spots sur une 2<sup>ème</sup> boîte témoin.
- Étaler une goutte de chaque souche testée, sur une gélose non sélective et incuber une nuit (détection des cultures mixtes, obtention d'une culture jeune).

### e) Incubation :

- Laisser les boîtes à température ambiante, couvercle vers le haut, jusqu'à absorption de l'humidité (séchage des spots, pas plus de 30 mn).
- Retourner les boîtes et incuber à  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 16-20 heures.
- Incuber *Streptococcus* spp dans une atmosphère contenant 5% de CO<sub>2</sub>.

### f) Lecture des CMI :

- Placer les boîtes sur une surface sombre, non réfléchive.
- Noter la CMI (la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne visible).
- Ne pas prendre en considération 2 colonies ou un léger film.
- Si on note plus de 2 colonies persistantes ou si l'on constate une réapparition de la culture au delà de la CMI, vérifier la pureté de l'inoculum et refaire le test.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

### Annexe 9

#### Fiche technique n° 5 : Détermination de la CMI par bandelettes E-test® [30].

➤ Objectif :

Cette technique, utilisant des bandes imprégnées d'un gradient de concentrations d'antibiotique, permet d'obtenir simplement et rapidement une détermination de la CMI, dans les mêmes conditions que l'antibiogramme standard. En routine, elle constitue une alternative acceptable à la méthode de référence.

➤ Technique :

- **Inoculum** : 0,5 Mc Farland ensemencé selon la technique décrite pour l'antibiogramme standard.
- **Application des bandelettes** :
  - Prélever la bandelette à l'aide de pince bactériologique 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 car une fois appliquée la bandelette ne peut être déplacée.
  - Laisser la boîte couvercle en haut pendant 15 min au plus.
- Lecture et interprétation :
  - La CMI de l'antibiotique testé est lue à l'œil nu, boîte ouverte et bien éclairée. Elle correspond à la graduation située à la jonction entre l'ellipse (dessinée par l'inhibition de la culture bactérienne) et la bandelette E-test®.
  - Comparer les résultats obtenus aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
  - Classer la bactérie dans l'une des catégories : S, R ou I.

## ANNEXES

---

➤ Contrôle qualité :

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

### **Annexe 10** : Fiche descriptive du WHONET 5.6 [48].

Le WHONET est un logiciel libre, développé par le centre collaborateur OMS pour la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Plus de 120 pays l'utilisent. Une mise à jour est faite pour ce programme, tenant compte des nouvelles recommandations des différents comités de l'antibiogramme, notamment : CLSI et EUCAST.

Les principaux objectifs de ce logiciel sont :

- D'améliorer l'utilisation locale des données de laboratoire ;
- De promouvoir la collaboration nationale et internationale par l'échange de données.

En Algérie, ce logiciel est utilisé depuis 1999 par l'ensemble des membres du réseau de bactériologie (AARN). Grâce à cet outil, les résultats d'antibiogramme sont saisis puis analysés par les microbiologistes. Ceci permet l'édition d'un rapport annuel d'évaluation sur les données de résistance bactérienne aux antibiotiques au niveau national.

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.

# BIBLIOGRAPHIE

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

1. Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H. Bactériologie clinique. Paris: Ellipses Edition Marketing S.A.; 2000.
2. Parte AC. LPSN—list of prokaryotic names with standing in nomenclature. *Nucleic Acids Res.* janv 2014;42(D1):D613-6.
3. Denis F, Ploy M-C, Martin C, Cattoir V, Barbeyrac B de, Barraud O, et al. Bactériologie médicale: techniques usuelles. 3ème édition. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2016. 600 p.
4. Batard é., El Kouri D, Potel G. Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. *EMC - Mal Infect.* janv 2007;4(3):1-8.
5. Brière M, Boutoille D, Caillon J, Potel G, Batard E. Infections à staphylocoques : aspects physiopathologiques, bactériologiques et cliniques. *Datatraitesmc08-64845* [Internet]. 9 sept 2014 [cité 29 mars 2018]; Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/en/article/922090>
6. Caby F, Bismuth R, Bossi P. Infections à staphylocoques. *EMC - Traité Médecine AKOS.* janv 2010;5(1):1-7.
7. MC Meyohas. Antibiotiques à activité antistaphylococcique. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), AKOS Encyclopédie Pratique de Médecine*, 5-0120, 1998, 4 p.
8. Aguilar-Galvez A, Dubois-Dauphin R, Destain J, Campos D, Thonart P. Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique). *Biotechnol Agron Soc Env.* 2012;10.
9. Stucki K, Harbarth S, Nendaz M. Infections à entérocoques : du plus simple au plus complexe.... *Rev Médicale Suisse.* 2014;5.
10. Reissier S. Daptomycine et infections sévères à entérocoques. *J Anti-Infect.* déc 2016;18(4):177-81.
11. Leclerq R. Entérocoques. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris) Encyclopédie Médico-Biologique*, 90-05-0155,2006.
12. Comité sur les infections nosocomiales du Québec. Mesures de prévention et contrôle de l'entérocoque résistant à la vancomycine dans les milieux de soins aigus du Québec: avis et recommandations [Internet]. Québec: Institut national de santé publique; 2013 [cité 28 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.deslibris.ca/ID/237169>
13. Brisou P, Chamouilli J-M, Gaillard T, Muzellec Y. Infections à pneumocoque. *EMC - Pédiatrie.* nov 2004;1(4):410-31.
14. Brisou P, Chamouilli J-M, Gaillard T, Muzellec Y. Infections à pneumocoque. 4 :260(B)-10.
15. . Klugman KP. Pneumococcal resistance to antibiotics. *Clin Microbiol Rev.* 1990;3:171-96.
16. Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. *Streptococcus pneumoniae*. In *Bactériologie Clinique*. 3ème Ed. Ellipses. : Paris; 2000. 60-72p.

## BIBLIOGRAPHIE

---

17. Carbonnelle B, Denis F, Marmonier A, Pinon G, et Vargues R. Les Cocci Gram positif. In Bactériologie Médicale «Techniques usuelles ». Ed SIMEP. -Paris; p105-116 p.
18. le Pr ZA. Le fardeau des infections pneumococciques, chez l'enfant.
19. Watson DA, Muscher DM, Verhoef J. Pneumococcal virulence factor and host immune responses to them. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1995;14: 479-90.
20. Pesola GR. The urinary antigen test for the diagnosis of pneumococcal pneumonia. Chest 2001;119 : 9-12.
21. Avril J-L. Streptococcus pneumoniae. Bactériologie clinique 2 ème Ed. Paris: Ellipses; 1992.
22. Raymond J, Cohen R, Mouli F, Gendre D, Berche P. Facteurs influençant le portage de Streptococcus pneumonie. Med Mal Infect. 2002;32: 13-20.
23. Warda K, Oufdou K, Bouskraoui M. Portage rhinopharyngé de Streptococcus pneumoniae chez les enfants. Int J Biol Chem Sci [Internet]. 29 août 2012 [cité 22 avr 2018];6(1). Disponible sur: <http://www.ajol.info/index.php/ijbcs/article/view/80514>
24. SATLI MM. Etude du portage rhinopharyngé du pneumocoque chez les nourrissons ayant une OMA à Marrakech .THESE; 2017.
25. Rieux V. Les facteurs de virulence de Streptococcus pneumoniae. Médecine Mal Infect. 2002;32:1-12.
26. Samir BEN YOUSSEF, Dr Jamel BELGUTH, Dr Rim HADIJI. Généralités sur les anti-infectieux en médecine vétérinaire. Ecole nationale de médecine vétérinaire SIDI THABET. Année 2015-2016.
27. Daurel C, Leclercq R. L'antibiogramme de Staphylococcus aureus. Rev Francoph Lab. déc 2008;2008(407):81-90.
28. Batard É, Ferron-Perrot C, Caillon J, Potel G. Antibiothérapie des infections causées par Staphylococcus aureus. 2005;11:9.
29. Azzam Amina épouse Yataghene. Evolution phylogénique de l'espèce ACINETOBACTER BAUMANII au CHU de Tizi-Ouzou et etude de sa résistance aux B-lactamines, aminosides et quinolones [Thèse de doctorat en sciences médicales :microbiologie]. Mouloud Mammeri Faculté de Médecine Tizi-Ouzou; 2018.
30. Rahal K et al. standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). 7ème édition. 2014.
31. Leclercq R. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. Ann Fr Anesth Réanimation. mai 2002;21(5):375-83.
32. Denis F, Ploy M-C, Martin C, Cattoir V, Barbeyrac B de, Barraud O, et al. Bactériologie médicale: techniques usuelles. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2016.
33. Bourdon N. Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques chez les entérocoques en France. J Anti-Infect. mars 2011;13(1):2-11.

## BIBLIOGRAPHIE

---

34. Leclercq R. Faut-il identifier les entérocoques, et comment ? Lettre de l'inféctiologue – Tome XVI No 07. 2001;6.
35. Courvalin P, Leclercq R. AntibioGramme. 3ème édition. Paris: Éd. Eska; 2012.
36. Chardon H. L'antibiogramme du pneumocoque. Rev Francoph Lab. déc 2008;2008(407):45-59.
37. Varon E, Houssaye S. Résistance des agents infectieux impliqués dans les infections des voies respiratoires basses en France. Médecine Mal Infect. nov 2006;36(11-12):555-69.
38. Chardon H, Varon E, Lagier E. l'épidémiologie de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques. :11.
39. Boukhatem M, Ferhat M, Mohamed R, Lalaoui N. Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococci* isolated from Kolea Hospital (Algeria). J Fundam Appl Sci. 6 août 2015;7(2):260.
40. Rahal K et al. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques 16ème rapport d'évaluation ( janvier -décembre 2015). 2017.
41. Elhani D. Does the emergence of antibiotic resistance announce the return of the dark ages? Ann Biol Clin (Paris). 2011;111-12;(6):637-646.
42. Elouennass M, Sahnoun I, Zrara A, Bajjou T, Elhamzaoui S. Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002-2005). Médecine Mal Infect. janv 2008;38(1):18-24.
43. Udo EE, Al-Sweih N, John P, Chugh TD. Antibiotic resistance of enterococci isolated at a teaching hospital in Kuwait. Diagn Microbiol Infect Dis. juill 2002;43(3):233-8.
44. Kamaz L. Antibiorésistance des entérocoques en Turquie; mise au point. 2005;8.
45. AISSA N. Sensibilité des staphylocoques au fil du temps. :35.
46. infection à pneumocoque images - Recherche Google [Internet]. [cité 2 juin 2018]. Disponible sur:  
<https://www.google.dz/search?q=infection+%C3%A0+pneumocoque+images&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=0ahUKEwi37J6l3rPbAhVFM-wKHQiaBHoQsAQIJA&biw=1280&bih=614#imgrc=o028mR23hLqH2M>:
47. Tableau des antibiotiques. Antibio-Responsable. fr- Le portail d'information et de promotion du juste usage des antibiotiques. 2018.
48. WHONET.ORG - Software! [Internet]. [cité 2 juin 2018]. Disponible sur:  
<http://www.whonet.org/software.html>

## BIBLIOGRAPHIE

---

## **Résumé**

L'association, chez les bactéries à Gram positif responsables d'infections communautaire et nosocomiale, de résistances naturelle et acquise aux antibiotiques confère une importance particulière à la prise en charge thérapeutique. Chez ces bactéries, le mécanisme prépondérant est lié à des modifications au niveau des cibles bactériennes des antibiotiques : modifications quantitatives et/ou qualitatives des protéines de liaison à la pénicilline rendant compte de la résistance à la pénicilline chez les pneumocoques et les entérocoques, à la méticilline chez les staphylocoques, modifications du peptidoglycane responsable de la résistance aux glycopeptides, anomalies du ribosome et modifications des gyrases rendant compte de la résistance aux macrolides et aux quinolones. L'association à d'autres mécanismes de résistance (enzymes inactivatrices, efflux) est responsable du caractère souvent multirésistant des souches nosocomiales.

**Mots clés : bactéries à Gram positif - antibiotiques - résistance**

## **Summary**

Resistance of Gram-positive bacteria to antibiotics is due to both natural and acquired factors. In these bacteria, the main mechanism involves modifications in the bacterial targets of antibiotics; for instance, quantitative and/or qualitative changes in the penicillin-binding proteins lead to penicillin resistance in enterococci and pneumococci; to methicillin resistance in staphylococci; changes in peptidoglycan responsible for the glycopeptide resistance; and abnormalities in the ribosome and gyrase modifications, resulting in resistance to macrolides and quinolones. The concomitant presence of other mechanisms (production of inactivating enzymes, efflux) is common and, as a result, many nosocomial strains are multiresistant.

**Keywords: Gram-positive bacteria – antibiotics - resistance**