

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



★★★★★

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

★★★★★



ANNEE 2001

N°83

***DONNEES SUR LA RESISTANCE DES SOUCHES
A L'ORIGINE D'INFECTIONS NOSOCOMIALES
(1990 -2000) AU C.H.U DE DAKAR***

THESE

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(DIPLOME D'ETAT)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

LE 27 JUILLET 2001

PAR

Aminata SECK

Née le 13 Avril 1971 à Dakar (SENEGAL)

JURY

M 42486

PRÉSIDENT : M. Doudou BA : Professeur

MEMBRES : M. Cheikh Saad Bouh BOYE : Professeur
M. Mamadou BADIANE : Maître de Conférences Agrégé
M. Amadou DIOUF : Maître de Conférences Agrégé

DIRECTEUR DE THÈSE : M. Cheikh Saad Bouh BOYE : Professeur

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTOSTOMATOLOGIE



PERSONNEL DE LA FACULTE

DOYEN	M. Doudou	THIAM
PREMIER ASSESSEUR.....	M. Cheikh Saad Bouh	BOYE
DEUXIEME ASSESSEUR.....	M. Malick	SEMBENE
CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS.....	M. Assane	CISSE

I - MEDECINE

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR GRADE POUR L'ANNEE UNIVERSITAIRE

2000-2001

* * *

PROFESSEURS TITULAIRES

* * *

M. José Marie	AFOUTOU	Histologie Embryologie
M. Mamadou	BA	Pédiatrie
M. Mamadou	BA	Urologie
M. Serigne Abdou	BA	Cardiologie
M. Salif	BADIANE	Maladies Infectieuses
M. Fallou	CISSE	Physiologie
M. Moussa Fafa	CISSE	Bactériologie-Virologie
M. Fadel	DIADHIOU	Gynécologie-Obstétrique
M. Baye Assane	DIAGNE	Urologie
M. Lamine	DIAKHATE	Hématologie
+ M. El Hadj Malick	DIOP	O.R.L.
Mme Thérèse	MOREIRA/DIOP	Médecine Interne I
M. Sémou	DIOUF	Cardiologie
M. Souvasin	DIOUF	Orthopédie-Traumatologie
M. Oumar	GAYE	Parasitologie
M. Mamadou	GUEYE	Neuro-Chirurgie
M. Momar	GUEYE	Psychiatrie
M. Serigne Magueye	GUEYE	Urologie
M. Nicolas	KUAKUVI	Pédiatrie
M. Bassirou	NDIAYE	Dermatologie
M. Ibrahima Pierre	NDIAYE	Neurologie
+ M. Madoune Robert	NDIAYE	Ophtalmologie
Mme Mbayang NIANG	NDIAYE	Physiologie
M. Mouhamadou	NDIAYE	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
M. Mouhamadou Mansour	NDIAYE	Neurologie
M. Papa Amadou	NDIAYE	Ophtalmologie
+ M. Mamadou	NDOYE	Chirurgie Infantile
M. Abibou	SAMB	Bactériologie-Virologie

+ *Professeur Associé*

; & *Personnel en détachement*

Personnel mis en Disponibilité

M. Mamadou & Mme Awa	SARR COLL/SECK	Pédiatrie Maladies Infectieuses
M. Seydina Issa Laye	SEYE	Orthopédie-Traumatologie
M. Dédéou	SIMAGA	Chirurgie Générale
M. Abdourahmane	SOW	Médecine Préventive
M. Housseyn Dembel	SOW	Pédiatrie
M. Mamadou Lamine	SOW	Médecine Légale
M. Moussa Lamine	SOW	Anatomie
*M. Cheikh Tidiane	TOURE	Chirurgie Générale
M. Meïssa	TOURE	Biochimie Médicale
M. Pape	TOURE	Cancérologie
M. Alassane	WADE	Ophtalmologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

* * *

M. Moussa	BADIANE	Radiologie
M. Seydou Boubakar	BADIANE	Neuro-Chirurgie
M. Mohamed Diawo	BAH	Gynécologie-Obstétrique
M. Jean Marie	DANGOUE	Anatomie-Pathologie
M. Abdarahmane	DIA	Anatomie
* M. Massar	DIAGNE	Neurologie
* M. Issakha	DIALLO	Santé Publique
M. Amadou Gallo	DIOP	Neurologie
M. Berrnard Marcel	DIOP	Maladies Infectieuses
M. El Hadj Ibrahima	DIOP	Orthopédie-Traumatologie
M. Ibrahima Bara	DIOP	Cardiologie
M. Saïd Norou	DIOP	Médecine Interne II
M. Alassane	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
M. Boucar	DIOUF	Médecine Interne I (Néphrologie)
M. Raymond	DIOUF	O.R.L.
M. Babacar	FALL	Chirurgie Générale
M. Ibrahima	FALL	Chirurgie Pédiatrique
Mme Mame Awa	FAYE	Maladies Infectieuses
M. Oumar	FAYE	Parasitologie
Mme Sylvie SECK	GASSAMA	Biophysique
Mme Gisèle WOTO	GAYE	Anatomie Pathologie
M. Lamine	GUEYE	Physiologie

** Associé**& Personnel en détachement*

M. Abdoul Almamy	HANE	Pneumophtisiologie
*M. Mamadou Mourtalla	KA	Médecine Interne I
M. Abdoul	KANE	Cardiologie
M. Victorino	MENDES	Anatomie Pathologie
M. Jean Charles	MOREAU	Gynécologie
*M. Claude	MOREIRA	Pédiatrie
M. Issa	NDIAYE	O.R.L.
M. Alain Khassim	NDOYE	Urologie
M Abdoulaye	NDIAYE	Anatomie-Chirurgie
M. El Hadji	NIANG	Radiologie
*M. Youssoupha	SAKHO	Neuro-Chirurgie
M. Niama Diop	SALL	Biochimie Médicale
Mme Bineta	SALL/KA	Anesthésie-Réanimation
M. Mohamadou Guélaye	SALL	Pédiatrie
M. Moustapha	SARR	Cardiologie
M. Birama	SECK	Pédopsychiatrie
M. El Hassane	SIDIBE	Médecine Interne II
M. Ahmed Iyane	SOW	Bactériologie-Virologie
*M. Pape Salif	SOW	Maladies Infectieuses
Mme Haby SIGNATE	SY	Pédiatrie
M. Mouhamadou Habib	SY	Orthopédie-Traumatologie
M. Cheickna	SYLLA	Urologie
M. Omar	SYLLA	Psychiatrie
M. Doudou	THIAM	Hématologie

MAITRES-ASSISTANTS

* * *

M. El Hadj Amadou	BA	Ophthalmologie
M. Moussa	BA	Psychiatrie
M. Momar Codé	BA	Neurochirurgie
Mme Sokhna	BA/DIOP	Radiologie
M. Boubacar	CAMARA	Pédiatrie
M. El Hadj Souleymane	CAMARA	Orthopédie-Traumatologie
M. Cheikh Ahmed T.	CISSE	Gynécologie-Obstétrique
Mme Mariama Safiétou KA	CISSE	Médecine Interne II
M. André Vauvert	DANSOKHO	Orthopédie-Traumatologie

Mme Anta TAL	DIA	Médecine Préventive
* M. Ibrahima	DIAGNE	Pédiatrie
M. Djibril	DIALLO	Gynécologie-Obstétrique
*M. Mame Thierno	DIENG	Dermatologie
M. Yémou	DIENG	Parasitologie
Mme Elisabeth	DIOUF	Anesthésie-réanimation
M. Mamadou Lamine	DIOUF	Médecine Interne I (Gastroentérologie)
M. Saliou	DIOUF	Pédiatrie
M. El Hadji Fary	KA	Médecine Interne
M. Assane	KANE	Dermatologie
*M. Mouhamadou	MBENGUE	Médecine Interne I Orthopédique
Mme Coura SEYE	NDIAYE	Ophtalmologie
M. Ousmane	NDIAYE	Pédiatrie
M. Cheikh Tidiane	NDOUR	Maladies infectieuses
Mme Paule Aïda ROTH	NDOYE	Ophtalmologie
M. Ndaraw	NDOYE	Neurochirurgie
M. Abdoulaye	POUYE	Médecine Interne I
Mme Anne-Aurore	SANKHALE/DIOUF	Chirurgie générale
M. Masserigne	SOUMARE	Maladies infectieuses
M. Abdoulaye	SAMB	Physiologie
Mme Anna	SARR	Maladies infectieuses
M. Doudou	SARR	Psychiatrie
M. Amadou Makhtar	SECK	Psychiatrie
M. Gora	SECK	Physiologie
Mme Hassanatou TOURE	SOW	Biophysique
M. Abdourahmane	TALL	O.R.L.
M. Alé	THIAM	Neurologie

***ASSISTANTS DE FACULTE - ASSISTANTS
DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX***

* * *

Melle Agaïcha Tamdette	ALFIDJA	Physiologie
M. Boubacar Samba	DANKOKO	Médecine Préventive
M. Abdoulaye Séga	DIALLO	Histologie-Embryologie
M Alassane	DIATTA	Biochimie Médicale

• *Associé*

M. Dialo	DIOP	Bactériologie-Virologie
M. Mamadou	DIOP	Anatomie (Cancérologie)
M. Moctar	DIOP	Histologie-Embryologie
M. Saliou	DIOP	Hématologie
Mme Awa Oumar TOURE	FALL	Hématologie
Mme Mame Coumba GAYE	FALL	Médecine Légale
M. Oumar	FAYE	Histologie-Embryologie
M. El Hadj Alioune	LO	Anatomie (Organogénèse)
M. Ismaïla	MBAYE	Médecine Légale
M. Mamadou	MBODJ	Biophysique
M. Oumar	NDOYE	Biophysique
M. Ndéné Gaston	SARR	Biochimie Médicale
M. Kamadore	TOURE	Médecine Préventive
M. Issa	WONE	Médecine Préventive

CHEFS DE CLINIQUE - ASSISTANTS ***DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX***

* * *

Mme Aïssata LY	BA	Radiologie
Mme Marième GUEYE	BA	Gynécologie-Obstétrique
M. Maguette	BA	Chirurgie Générale
M. Mamadou Diarrah	BEYE	Anesthésie-Réanimation
Mme Elisabeth FELLER	DANSOKHO	Maladies Infectieuses
M. Ahmadou	DEM	Cancérologie
Melle Ndèye Méry	DIA	Maladies Infectieuses
M. Saïdou	DIALLO	Médecine Interne I
M. Oumar	DIARRA	Chirurgie Générale
M. Charles Bertin	DIEME	Orthopédie-Traumatologie
M. Rudolph	DIOP	Stomatologie
Mme Fatou SENE	DIOUF	Neurologie
M Papa Ahmed	FALL	Urologie
M. Oumar	KANE	Anesthésie-Réanimation
* M. Abdoul Aziz	KASSE	Cancérologie
Mme Aminata DIACK	MBAYE	Pédiatrie
M Philippe Marc	MOREIRA	Gynécologie obstétrique
M. Amadou Koura	NDAO	Neurologie
M. Moustapha	NDIAYE	Neurologie

• *Associé*

Mme Ndèye Maïmouna	NDOUR	Médecine Interne II
*M. Abdou	NIANG	Néphrologie
Mme Suzanne Oumou	NIANG	Dermatologie
M Moussa	SEYDI	Maladies Infectieuses
Mme Aïda	SYLLA	Psychiatrie
M Mamadou Habib	THIAM	Psychiatrie
M. Silly	TOURE	Stomatologie

ATTACHES CHEFS DE CLINIQUE

* * *

M. Oumar	BA	Pneumophtisiologie
M. Mamadou	COUME	Médecine Interne I
M. Mor	NDIAYE	Pneumophtisiologie

ATTACHES - ASSISTANTS

* * *

M ^{me} Nafissatou NDIAYE	BA	Anatomie-Pathologie
M ^{elle} Fatou	DIALLO	Biochimie Médicale
M. Papa	NDIAYE	Médecine Préventive

* *Associé*

II - PHARMACIE

PROFESSEURS TITULAIRES

* * *

M. Doudou	BA	Chimie Analytique et Toxicologie
M. Emmanuel	BASSENE	Pharmacognosie
M. Cheikh Saad Bouh	BOYE	Bactériologie-Virologie
M. Alioune	DIEYE	Immunologie
* M. Babacar	FAYE	Pharmacologie-Pharmacodynamie
M. Issa	LO	Pharmacie Galénique
* M. Souleymane	MBOUP	Bactériologie-Virologie
* M. Oumar	NDIR	Parasitologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

* * *

M. Mamadou	BADIANE	Chimie Thérapeutique
*M Aynina	CISSE	Biochimie Pharmaceutique
M. Mounirou	CISS	Toxicologie
M. Balla Moussa	DAFFE	Pharmacognosie
Mme Aïssatou GAYE	DIALLO	Bactériologie-Virologie
Mme Aminata SALL	DIALLO	Physiologie Pharmaceutique
M. Amadou	DIOUF	Toxicologie
M. Pape Amadou	DIOP	Biochimie Pharmaceutique

MAITRES-ASSISTANTS

* * *

Melle Issa Bella	BA	Parasitologie
*M. Amadou Moctar	DIEYE	Pharmacologie
M. Yérim Mbagnick	DIOP	Chimie analytique
Mme Rita BEREHOUDOU	NONGONIERMA	Pharmacognosie
M. Matar	SECK	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
M. Oumar	THIOUNE	Pharmacie Galénique

* *Associé*

ASSISTANTS

* * *

M. Mounibé	DIARRA	Physique Pharmaceutique
M. William	DIATTA	Botanique
M ^{elle} Thérèse	DIENG	Parasitologie
M. Macoura	GADJI	Hématologie
M ^{elle} Edwige	GOMIS	Pharmacognosie
M. Ahmédou Bamba K. & M. Djibril	FALL FALL	Pharmacie Galénique Pharmacie Chimique et Chimie Organique
M. Mamadou	FALL	Toxicologie
M. Modou	LO	Botanique
*M. Augustin	NDIAYE	Physique Pharmaceutique
M. Bara	NDIAYE	Chimie Analytique
*M. Mamadou	NDIAYE	Pharmacologie
Mme Maguette Dème SYLLA	NIANG	Immunologie-Biochimie
Mme Philomène LOPEZ	SALL	Biochimie Pharmaceutique
M. Mamadou	SARR	Physiologie Pharmaceutique
*M. Elimane Amadou & M. Alassane	SY WELE	Chimie Générale et Minérale Chimie Physique

ATTACHES

* * *

Mme Amy THIAM	FALL	Chimie Analytique
M Mor	GUEYE	Physiologie Pharmaceutique
M. Pape Madièye	GUEYE	Biochimie Pharmaceutique
M. Modou Oumou	KANE	Physiologie Pharmaceutique
M. Sarra	NGOM	Pharmacie Galénique

** Assistant Associé
& En Stage*

III - CHIRURGIE DENTAIRE

PROFESSEURS TITULAIRES

* * *

M. Ibrahima	BA	Pédodontie-Prévention
M ^{me} Ndioro	NDIAYE	Odontologie Préventive et Sociale

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

* * *

* M. Boubacar	DIALLO	Chirurgie Buccale
M. Papa Demba	DIALLO	Parodontologie
M ^{me} Charlotte FATY	NDIAYE	Chirurgie Buccale
M. Malick	SEMBENE	Parodontologie

MAITRES-ASSISTANTS

* * *

M. Daouda	CISSE	Odontologie Préventive et Sociale
*M. Falou	DIAGNE	Orthopédie Dento-Faciale
M ^{me} Fatou	DIOP	Pédodontie-Prévention
M ^{elle} Fatou	GAYE	Odontologie Conservatrice Endodontie
M. Abdou Wahab	KANE	Odontologie Conservatrice Endodontie
*M. Mohamed Talla	SECK	Prothèse Dentaire
M ^{elle} Soukèye DIA	TINE	Chirurgie Buccale
M. Abdoul Aziz	YAM	Pédodontie

ASSISTANTS DE FACULTE

* * *

M. Abdou	BA	Chirurgie Buccale
M ^{me} Aïssatou TAMBA	BA	Pédodontie-Prévention
M ^{me} Khady DIOP	BA	Orthopédie Dento-Faciale
M. Henri Michel	BENOIST	Parodontologie
M ^{me} Adam Marie A. SECK	DIALLO	Parodontologie
*M. Khalifa	DIENG	Odontologie Légale
*M. Lambane	DIENG	Prothèse Dentaire

* Maître Assistant - Associé

*M. Malick	MBAYE	Odontologie Conservatrice Endodontie
M. Edmond	NABHANE	Prothèse Dentaire
M Cheikh	NDIAYE	Prothèse Dentaire
M. Paul Dédé Amadou	NIANG	Chirurgie Buccale
M. Farimata Youga	SARR	Matières Fondamentales
M. Babacar	TOURE	Odontologie Conservatrice Endodontie
M. Saïd Nour	TOURE	Prothèse Dentaire

ATTACHES

* * *

M. Babacar	FAYE	Odontologie Conservatrice Endodontie
M. Daouda	FAYE	Odontologie Préventive et Sociale
M. Malick	FAYE	Pédodontie-Orthodontie
M. Mohamed	SARR	Odontologie Conservatrice Endodontie
M ^{me} Fatoumata DIOP	THIAW	Odontologie Conservatrice Endodontie

** Assistant Associé*



DEDICACES

Au nom d'Allah le tout puissant

et à son prophète Mohamed (PSL)



JE
DEDIE
CE
TRAVAIL
A

- **A mes grands – parents**

« In mémorium »

- **A ma grand-mère Aïssatou Dieng**

Je vous dois l'essentiel de ce travail .

Vos conseils , vos prières incessantes font qu'aujourd'hui mes études sont couronnées.

Que Dieu vous donne longue vie et beaucoup de santé pour savourez ensemble le fruit de votre éducation et de votre amour.

- **A ma mère**

Je vous dois l'essentiel de cette réussite .

Femme courageuse, exemplaire vous vous êtes toujours sacrifiée pour la réussite de vos enfants.

Vous avez toujours été pour moi un exemple de bonté et de générosité .

Vos souffrances et vos prières ne sauraient restées vaines.

Que Dieu vous garde encore longtemps auprès de nous pour savourer ensemble le fruit de votre éducation , votre amour et votre patience.

- **A mon père**

A votre grande noblesse d'âme et à votre sens du devoir.

Que Dieu vous accorde longue vie et santé.

- **A mon grand-père Souleymane Paye**

- **A Tonton Adama Paye et enfants**

Je ne saurais trouver les vrais mots pour vous exprimer mes sentiments les plus profonds de reconnaissance et d'affection pour votre soutien constant.

Vous nous avez aimés comme vos enfants.

Votre soutien et vos conseils ne nous ont jamais fait défaut.

En ce jour solennel, je ne pourrais me permettre de ne pas vous rendre hommage à travers ce travail .

Je prie Dieu pour qu'il vous donne longue vie et beaucoup de santé, pour vous permettre d'assister à notre réussite.

- A Tonton Pape Paye , Tonton Ass, Tonton allemand

vous m'avez soutenue et encouragée tout au long de mes études.

Les mots sont incapables à exprimer toute l'admiration que je vous porte .

Puisse ce travail témoigner encore toute ma reconnaissance .

- A Tata Saly et à son mari Boubacar

Je ne saurais vous distinguer de ma mère.

Vous nous avez cajolés comme vos propres enfants.

Ce travail vous est adressé en signe de reconnaissance.

Que Dieu vous donne longue vie et santé.

- A ma tante Aïta Diagne et sa famille

- A ma grand-mère Amy Samb

- A mame Doudou Diop

- A mon homonyme Mame Amy Seck et ses enfants, toute ma reconnaissance.

- A mes frères Issa, Malick, Jules, Mbaye.

J'apprécie beaucoup l'estime et l'amour fraternel que vous me portez.

Puisse ce travail vous inciter à mieux faire.

Je vous souhaite réussite dans toutes vos entreprises.

- **A mes sœurs, Daba, Maréme, Ndéye Amy, Maréme Diagne**

J'espère que nous aurons toujours l'occasion de nous réunir et de nous entendre éternellement.

- **A ma sœur Mariétou et à son mari Bass.**

Ce travail vous est dédié en signe d'affection.

Profonde gratitude.

- **A mes cousins et cousines**

- **A Papy Diallo, alioune, Ndéye Maréme, et à ma nièce Léna.**

Que Dieu fasse que vous suiviez mes traces et que vous fassiez mieux que moi.

Je vous aime tant.

- **A toutes mes amies (Binette, Deguène, Mounas, Mame Fatou, Khady, Coura, Coumba, Adam)**

- **Au Docteur Modou Oumy Kane**

Pour ton soutien, ta gentillesse et ta disponibilité.

Toute ma gratitude.

- **A mes camarades de promotion .**

Pour ces longues années passées ensemble.

- **A mes cothésards (Dieynaba, Rama, Bocoum, Ousmane, Dramé, Bouba, Mama, Seydou)**

- **A Docteur Dia et tout le personnel de la pharmacie Nelson Mandela.**
Pour votre soutien et votre sympathie.

- **Au Docteur maréme Sy**

- **A Youssou Samb**
Merci pour tes conseils.

- **A tout le personnel du laboratoire de Bactériologie Virologie de l'H.A.L.D. , en particulier à Amy Guéye, Assane, Omar.**

- **A Madame Guéte Diallo Thiam**
Toute ma gratitude.

- **A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à ce travail.**



A
NOS
MAITRES
ET
JUGES

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE JURY

LE PROFESSEUR DOUDOU BA

Vous nous avez honorés en acceptant spontanément de présider notre jury de thèse .

Votre modestie, votre courtoisie et vos qualités scientifiques, font de vous un maître admiré et respecté de tous.

Veillez accepter cher maître nos sincères remerciements et notre profonde gratitude .

A NOTRE MAITRE ET JUGE

LE PROFESSEUR MAMADOU BADIANE

Nous avons été très touchés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail. Votre abord facile, votre disponibilité et votre simplicité, font de vous un maître aimé de tous.

Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude .

**A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE
LE PROFESSEUR CHEIKH SAAD-BOUH BOYE**

Vous nous avez confié ce travail et vous nous avez guidés dans sa réalisation malgré vos nombreuses occupations.

Votre sympathie et votre rigueur scientifique forcent l'admiration de tous .

Nous vous prions cher maître, d'accepter nos vifs remerciements et notre profonde gratitude.

**A NOTRE MAITRE ET JUGE
LE PROFESSEUR AMADOU DIOUF**

C'est un grand honneur pour nous de vous compter parmi nos juges.

Nous sommes sensibles à l'amabilité avec laquelle vous nous avez accueillis.

Nous vous remercions pour votre disponibilité .

« Par délibération, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation ».

II-4 Phénotypage :caractérisation des souches	24
II-4-1 Antibiotypie	24
II-4-1-1 Antibiogramme	24
II-4-1-2 Détermination de la CMI	25
II-4-2 Sérotypie	25
II-4-3 Biotypie	25
II-4-4 Lysotypie	26
II-4-5 Bactériocinotypie	26
II-4-6 Plasmides de résistance	27
II-4-7 Ribotypie	27
II-4-8 Toxinotypie	28
II-4-9 Zymotypie	28
II-4-10 Pulsotypie	28
II-5 Méthodes indirectes de diagnostic :	
Méthodes Séro-immunologiques	29
II-5-1 Dosage des cytokines de l'inflammation : IL1, IL,	
TNF _{alpha} , INF _{gamma}	29
II-5-2 Mise en évidence d'une réaction antigène-	
anticorps (Ag-Ac) invisible	30
II-5-2-1 Réactions d'immunofluorescence	30
II-5-2-2 Réaction de fixation du complément	30
II-5-2-3 Hémagglutination passive	31
II-5-2-4 Réactions de précipitations	31
II-5-2-5 Réactions immuno-enzymatiques :	
technique ELISA	32
III / Agents responsables et facteurs de risque	32
III-1 Agents responsables	32
III-2 Facteurs de risque	33

III-2-1 Facteurs antibiothérapeutiques	33
III-2-2 Les autres portes d'entrée	34
IV / Classification des antibiotiques	35
IV-1 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane	35
IV-2 Antibiotiques actifs sur les membranes	37
IV-3 Antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques	37
IV-4 Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques	38
IV-5 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates	39
IV-6 Antibiotiques antituberculeux	40
V / Mécanismes de résistance et phénotypes de résistance	40
V-1 Définitions	40
V-1-1 Notion de résistance	40
V-1-2 Type de résistance	41
V-1-2-1 Résistance naturelle	41
V-1-2-2 Résistance acquise	41
V-1-2-3 Résistance clinique	42
V-1-3 Support génétique	42
V-1-3-1 Résistance chromosomique	43
V-1-3-2 Résistance extrachromosomique	43
V-1-4 Phénotype de résistance	44
V-2 Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques	44
V-2-1 Résistance aux bêta-lactamines	45
V-2-1-1 Mécanismes d'action des bêta-lactamines	45
V-2-1-2 Mécanismes de résistance aux bêta-lactamines	45
V-2-1-2-1 Résistance par	

production d'enzymes	45
V-2-1-2-2 Résistance non enzymatiques aux bêta-lactamines	49
V-2-1-2-3 Autres mécanismes de résistance aux bêta-lactamines	53
V-2-2 Résistance aux aminosides	54
V-2-2-1 Mécanismes d'action des aminosides	54
V-2-2-2 Mécanismes de résistance	54
V-2-2-2-1 Altération de la cible	54
V-2-2-2-2 Modification du transport de l'antibiotique	55
V-2-2-2-3 Détoxification enzymatique des antibiotiques	55
V-2-3 Résistance bactérienne aux macrolides, lincosamines et streptogramines	58
V-2-3-1 Mécanismes d'action	58
V-2-3-2 Mécanismes de résistance	58
V-2-3-2-1 Résistance intrinsèque	58
V-2-3-2-2 Résistance acquise	59
V-2-4 Résistance aux tétracyclines	60
V-2-5 Résistance aux glycopeptides	60
V-2-5-1 Mécanisme d'action des glycopeptides	60
V-2-5-2 Mécanismes de résistance aux Glycopeptides	61
V-2-6 Résistance vis à vis des sulfamides et du Triméthoprim	62
V-2-7 Méthicillinorésistance (ou Oxacilline et dérivés)	63

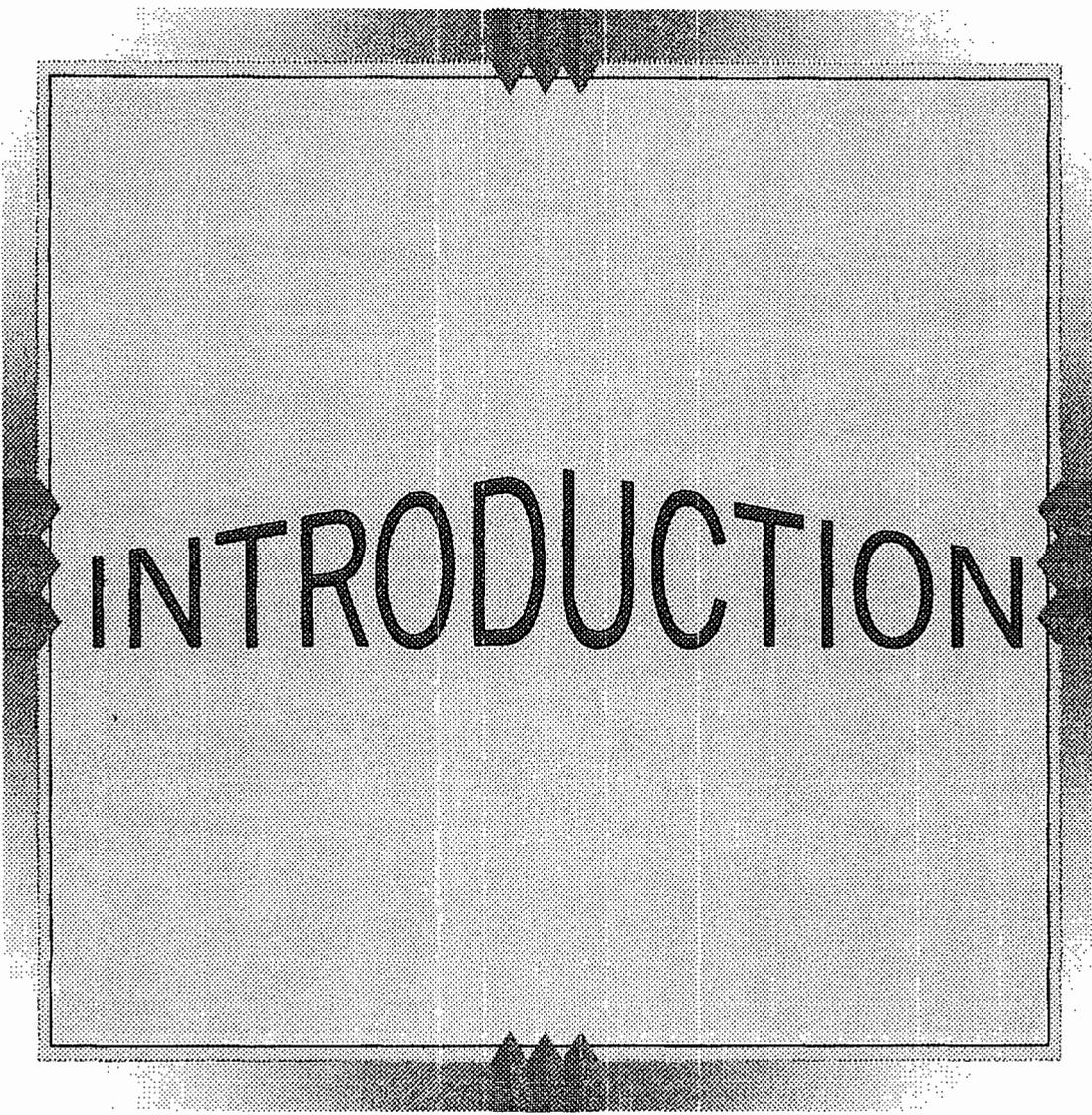
2^{ème} partie : TRAVAIL PERSONNEL	65
I / Cadre de l'étude	66
II / Matériels et méthodes	66
II-1 Matériel	66
II-1-1 Origine des souches	66
II-1-2 Culture de germes	66
II-1-3 Résistance enzymatique	67
II-2 Méthodes	67
II-2-1 Isolement des germes chez les malades	67
II-2-1-1 Les prélèvements	68
II-2-1-2 Traitement des produits pathologiques	68
II-2-1-2-1 Définition des produits pathologiques	68
II-2-1-2-2 Différents produits Pathologiques	69
II-2-2 Isolement des germes de l'atmosphère	76
II-2-2-1 Prélèvements	76
II-2-2-2 Identification	76
II-2-3 Isolement des germes au niveau du matériel médical et des mains du personnel	77
II-2-4 Identification	78
II-2-5 Sensibilité aux antibiotiques	86
II-2-5-1 Antibiogramme	86
II-2-5-2 Détermination de la CMI	87
II-2-5-2-1 Définition de la CMI	87
II-2-5-2-2 Méthode par dilution	88
II-2-5-2-2-1 En milieu liquide	88
II-2-5-2-2-2 En milieu solide	89

II-2-5-2-3 Méthode par diffusion (antibiogramme : méthodes des disques)	89
II-2-5-2-4 Microméthodes d'étude in vitro de la sensibilité des germes aux antibiotiques	90
II-2-5-2-5 Le E-test (Epsillometer-test)	91
II-2-5-3 Mise en évidence de Bété-lactamases à spectre élargi ou étendu	91
II-2-5-4 Recherche de la méthicillino -résistance	92
II-3 Analyse des résultats	94
II-4 Interprétation	95
III / Résultats et commentaires	96
III-1 Résultats globaux	96
III-1-1 Phénotypes de résistance et profil de sensibilité des cocci à Gram positif	96
III-1-1-1 Les Staphylocoques	96
III-1-1-2 Les Entérocoques	100
III-1-2 Phénotypes de résistance et profil de sensibilité des bacilles à Gram négatif	102
III-1-2-1 Escherichia coli	102
III-1-2-2 Klebsielles	103
III-1-2-3 Pseudomonas aeruginosa	108
III-2 Résultats de la sensibilité en fonction du produit pathologique	107
III-2-1 Cocci à Gram positif	107
III-2-1-1 Urines	107
III-2-1-2 Hémocultures	107

III-2-1-3 Pus	108
III-2-2 Bacilles à Gram négatif	108
III-2-2-1 Urines	108
III-2-2-2 Hémocultures	110
III-2-2-3 Pus	110
IV / Discussion	112
IV-1 Etude de la sensibilité en fonction des germes	112
IV-1-1 Les cocci à Gram positif	112
IV-1-1-1 Les Staphylocoques	112
IV-1-1-2 Les Entérocoques	116
IV-1-2 Les bacilles à Gram négatif	117
IV-1-2-1 Escherichia coli	117
IV-1-2-2 Klebsielles	120
IV-1-2-3 Pseudomonas aeruginosa	122
IV-2 Prise en charge thérapeutique des infections nosocomiales	123
IV-2-1 Prise en charge curative	123
IV-2-2 Prise en charge préventive	125
IV-2-3 Conditions d'hygiène	126
CONCLUSION	128
BIBLIOGRAPHIE	132

Liste des Abréviations

ATB	=	Antibiotiques
Amx – Ac Clavula	=	Amoxicilline – acide clavulanique
BLSE	=	Bétalactamase à spectre élargi
CBN	=	céphalosporinase bas niveau
CHN	=	céphalosporinase haut niveau
CMI	=	concentration minimale inhibitrice
E-test	=	epsillometer-test
H.A.L.D	=	Hôpital Aristide Le Dantec
Méthi-R	=	Méthicilline-résistant
Méthi-S	=	Méthicilline-sensible
MLS	=	Macrolides – Lincosamines – Streptogramines
MS	=	Moyennement sensible
Oxa	=	Oxacilline
PBN	=	Pénicillinase bas niveau
PHN	=	Pénicillinase haut niveau
P + C	=	Pénicillinase + céphalosporinase
PLP	=	Proteine liant la pénicilline
Peni G	=	Pénicilline G
R	=	résistant
S	=	sensible
Sulfa-trimétho	=	sulfaméthoxazole-triméthoprim
Tet	=	tétracycline
Whonet	=	World Health Organisation Net Work



INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les infections nosocomiales (infections contractées en milieu hospitalier), constituent un véritable problème de santé publique, du fait de leur fréquence et de leur gravité. Ceci peut être dû au manque de moyens prophylactiques et thérapeutiques, mais aussi de moyens financiers dans nos pays, et surtout au fait que les cliniciens ne tiennent pas compte de certains facteurs avant d'établir un protocole thérapeutique ou prophylactique.

Les conséquences de ces infections nosocomiales sont multiples et sont responsables d'une mortalité élevée et d'un prolongement de la durée d'hospitalisation.

Leur traitement nécessite des moyens humains et médicamenteux très onéreux .

L'efficacité de nombreux antibiotiques a été testée sur les germes responsables de ces infections, mais il apparaît que la résistance bactérienne vis à vis de ces agents antimicrobiens continue à être un important problème de santé publique.

Ainsi, nous allons à travers cette étude menée à l'H.A.L.D. vous apporter le maximum d'informations sur le comportement des germes les plus impliqués dans ces infections nosocomiales, pendant les dix dernières années.

1ère Partie :
GENERALITES

I/ EPIDEMIOLOGIE

I-1/ Définition de l'infection nosocomiale

Une infection nosocomiale est une infection contractée en milieu hospitalier, donc qui n'est ni présente, ni en phase d'incubation au moment de l'admission du patient à l'hôpital **(79-63)**. Elle peut être endogène

Les infections endogènes sont causées par des organismes présents dans la flore normale du patient.

Les exogènes sont celles causées par des organismes acquis par contact avec le personnel soignant, les appareils médicaux ou l'environnement hospitalier **(49-84)**.

Ces infections sont caractérisées par leur fréquence et leur gravité.

I-1-1 Fréquence

La fréquence des infections nosocomiales est assez élevée et varie d'un pays à un autre suivant le niveau de développement. Elles touchent aussi bien les malades que les personnes saines (personnel hospitalier et visiteurs).

Ainsi, elle varie de 3,5% aux Etats-Unis **(57)** à 10,2% en France (Toulouse) **(126)**.

Pour les pays en voie de développement en général et le Sénégal en particulier, la situation est préoccupante mais les données manquent cruellement.

Les infections nosocomiales peuvent être d'origines diverses. On distingue :

- Les infections urinaires
- Les infections de la plaie opératoire
- Les infections bronchopulmonaires
- Les bactériémies

Ces différents types d'infections ont des fréquences variées.

Le tableau n°1 donne les résultats de quelques études menées à ce sujet dans différents types (57-122-86-14)

Tableau I Fréquence des différents types d'infections nosocomiales en fonction des pays.

Infections Pays	Infections urinaires	Infections de la plaie opératoire	Infections respiratoires	Bactériémies	Infections de la peau et Cathater
USA (Senic projet)	42%	23%	10%	5%	NP
France (Toulouse)	42%	33%	10,5%	6,5%	NP
France (Tours)	17%	15%	20%	NP	15,5%
Algérie (Babel Oued)	29,3%	35,4%	12,2%	NP	22%

NP = non précisé

A partir de ces données, nous pouvons dire que le taux de ces infections varie d'un pays à un autre mais également à l'intérieur d'un même pays.

I-1-2 Gravité

La gravité des infections nosocomiales réside dans les énormes difficultés thérapeutiques qu'elles posent. Cela s'explique par deux phénomènes principaux :

- Elles se développent sur un terrain déficient.
- Elles résistent aux antibiotiques couramment utilisés par résistance extrachromosomique.

I-2 Flore de l'hôpital

L'hôpital est un lieu de rencontre par excellence (visiteurs, personnel hospitalier, malades). Il constitue ainsi un réservoir énorme de germes qui touche en premier lieu les malades du fait de leur immunodéficience. Il faut noter que les germes retrouvés dans le milieu hospitalier se rencontrent également dans l'environnement extra-hospitalier.

Cependant la flore de l'hôpital est toujours plus virulente. Cette virulence est due à la résistance acquise du fait de l'utilisation abusive des ATB.

Aussi, les germes liés à l'hôpital sont plus difficiles à combattre et sont sources de complications sévères.

I-3 Les modes de contamination

On distingue 2 types :

La contamination aérienne et la contamination par contact.

I-3-1 Contamination aérienne

L'air héberge des saprophytes qui deviennent virulents dans le milieu des anti-microbiens. Les germes aériens ne se trouvent jamais à l'état libre dans l'atmosphère, mais se fixent sur les poussières et les grosses particules qui, en atmosphère libre, présentent pratiquement toujours une large gangue de germes saprophytes, solidement adsorbés à leur surface (83).

En 1948, Wells met en évidence le rôle capital des gouttelettes de Flügge qui sont des gouttelettes rhinopharyngées émises par l'homme. Ces gouttelettes peuvent également se dessécher, réalisant « les dropets nuclei » susceptibles de rester en suspension et de transporter les germes infectieux vivants. Ainsi, l'infection qui sévit dans les blocs opératoires et dans les salles de malades peut se transmettre par voie aérienne (25).

I-3-2 Contamination par contact

Elle est causée par 4 agents principaux :

Les mains du personnel soignant, le matériel médical, les malades et les visiteurs.

- Les mains du personnel soignant :

Ce personnel, notamment le chirurgien, peut contaminer les malades en effectuant des actes médicaux ; soit par ses gants, soit par ses mains souillées.

- Le matériel médical, mal nettoyé, mal stérilisé, peut héberger des germes

susceptibles de contaminer les malades. Selon Maissonnet, les instruments chirurgicaux placés sur les tables, deviennent

« contaminés » (c'est-à-dire porteurs de germes) dans les quatre minutes suivant l'extraction de leur enveloppe, quelles que soient les précautions prises **(83)** .

- Le malade lui-même, peut, lors de son séjour à l'hôpital, contaminer ses

proches notamment : les autres malades, le personnel soignant, les visiteurs ;

- ✓ Soit directement par l'utilisation collective d'ustensiles souillés, au niveau des

sanitaires, lors d'actes médicaux pour le personnel soignant etc...

- ✓ Soit indirectement par moment par les mouches et les moustiques.

Les malades peuvent libérer également des germes qui peuvent contaminer ainsi d'autres malades, le personnel soignant et les visiteurs

Exemple : le bacille de Koch responsable de la tuberculose qui se transmet rapidement par voie aérienne d'une personne à une autre.

- Les visiteurs : ils peuvent contaminer les malades et en retour, transmettre au milieu extra-hospitalier des germes de la flore d'hôpital.

III/ DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIE

Il permet de mieux cerner l'épidémiologie des infections nosocomiale, afin de mieux adapter l'antibioprophylaxie et l'antibiothérapie et ceci par une bonne connaissance des germes.

Ce diagnostic consistera à un isolement et à une identification des bactéries au niveau de divers prélèvements, à savoir :

- Les produits pathologiques
- Les germes de l'atmosphère
- Le manuportage et le matériel médical.
-

II-1 Les produits pathologiques

II-1-1 Généralités

II-1-1-1 Définition

Ce sont des produits biologiques où se sont multipliés des micro-organismes responsables de l'infection.

Classiquement, on distingue 2 types de produits pathologiques :

- Les monomicrobiens
- Les polymicrobiens

- Les monomicrobiens sont des produits biologiques originaires d'une cavité

naturelle, qui est stérile à l'état normal, car n'ayant aucun contact avec l'extérieur. Ce sont des produits qu'on prélève à l'aide d'une aiguille ou de tout autre matériel de ponction.

Comme exemple, nous pouvons citer :

Le LCR, le sang, les liquides pleuraux, les liquides d'arthrite, les liquides péricardes.

En général, on isole qu'une seule bactérie responsable de l'infection.

- Les polymicrobiens sont issus de cavités naturelles qui sont normalement

septiques. Ce sont des produits riches en germes ou en produits contaminés par des germes lors de leur élimination dans le milieu extérieur. Cette contamination survient lors de l'émission, par des voies naturelles septiques.

Exemples de produits polymicrobiens :

Selles, Sécrétions buccales, vaginales, rhinopharyngées, pus d'abcès fustillés, urines.

Pour ces produits pathologiques, les techniques utilisées pour isoler les germes causales et l'interprétation des résultats qui sont obtenus après l'étude d'un produit pathologique polymicrobien passe nécessairement par la connaissance de la flore commensale du milieu où le prélèvement a été effectué, et c'est sous réserve de parfaites conditions d'asepsie au cours des manipulations, que l'isolement d'un germe étranger à la flore, amène à suspecter sa responsabilité dans le processus infectieux en cours.

Pour les produits monomicrobiens, sous réserve également des conditions d'asepsie durant la manipulation, tout germe isolé de ces produits est suspect de l'infection.

II-1-1-2 Règles générales de l'examen bactériologique des produits pathologiques

- **Les prélèvements**

Ils doivent être effectués avant toute antibiothérapie, et dans des conditions strictes d'asepsie.

Le détail des techniques de prélèvements (cf chapitre Matériel et méthodes), va varier en fonction du produit pathologique, et il faut envoyer le prélèvement au laboratoire

Avec des renseignements succincts sur le malade et son état clinique.

Il est important de toujours insister sur la qualité du prélèvement, car elle va conditionner toute la suite de l'examen.

On dit qu'avec de bons prélèvements, on obtient de bons résultats.

Le bactériologiste n'est pas toujours directement concerné par de nombreux prélèvements qui ne sont pas de son ressort, mais généralement, c'est lui qui fournit le matériel de prélèvement et même si ce n'est pas lui qui effectue ces prélèvements, il doit s'en tenir responsable et il doit en permanence recycler ses correspondants.

- **Transport et conservation**

En règle générale, il faut effectuer les prélèvements au laboratoire où les y acheminer dans les meilleurs délais possibles.

Si les délais d'acheminement sont longs, il faudra alors utiliser des milieux de transport qui vont assurer la survie des germes sans provoquer de multiplication.

Si cet acheminement n'est pas possible, il faudra alors conserver les prélèvements, mais dans des conditions qui sont spécifiques à chaque type de prélèvements.

Par exemple si on veut conserver des urines, il faut le faire à +4°C. Cette conservation va permettre d'éviter toute altération du produit pathologique jusqu'à son arrivée au laboratoire.

- **Règles générales concernant l'analyse bactériologique**

Une analyse bactériologique ne doit pas se résumer à une simple technique, mais doit être orientée selon la demande du clinicien et selon les renseignements cliniques qui accompagnent le prélèvement.

Cette orientation, également, exige dans de nombreux cas de réaliser un examen direct avant la mise en culture, et l'examen direct est une des meilleures techniques rapides de diagnostic.

Des renseignements précieux sont aussi fournis par l'examen macroscopique qui est un examen banal, mais qui a une importance capitale dans l'interprétation des résultats.

L'examen direct place la recherche bactériologique dans un complexe cytologique.

On procède ensuite à la mise en culture qui se fera en fonction des décisions d'orientation généralement, on évite dans la mesure du possible l'usage trop facile des milieux sélectifs. En fonction des données recueillies au niveau de la culture, sera décidée la suite à donner à l'examen.

En règle générale, il faut toujours éviter d'identifier des bactéries de souillures ou de donner un antibiogramme inadéquat qui représente une incitation à la mise en œuvre d'une antibiothérapie.

II-1-1-3 Les résultats

Le clinicien a toujours besoin de disposer de résultats dans les meilleurs délais, et il ne faut pas attendre l'identification complète des bactéries et

la réalisation de leur antibiogramme pour communiquer les résultats partiels qui peuvent être très utiles.

En règle générale, la communication des résultats devra se faire par étapes successives.

D'abord, on communique l'examen microscopique sur le plan bactériologique et cytologique.

Dans un second temps, on rend les résultats de la culture ; le tout sera sommé par les résultats de l'antibiogramme.

II-1-2 Les produits pathologiques étudiés

II-1-2-1 Les urines

▪ Physiopathologie

L'analyse qui permet de faire le diagnostic biologique de l'infection urinaire est appelé Examen cyto-bactériologique des urines = ECBU.

Le terme d'infection urinaire est impropre, il s'agit en fait d'infection des voies urinaires et on parle alors d'ITU = Infection du Tractus Urinaire.

Le plus souvent cette ITU se fait par voie ascendante ; elle se produit alors à partir de la flore fécale ou périanale ; elle est de ce fait plus fréquente chez la femme.

Dans ce cas, elle résulte d'une déficience du mécanisme auto-épurateur normal.

Une ITU par voie descendante ou hématogène est possible mais rare. L'ITU peut être aussi iatrogène par introduction de germes lors du cathérisme.

Les complications des ITU sont les septicémies ou Néphrite.

▪ Conditions de l'ECBU

Après le prélèvement des urines qui conditionne la qualité de l'ECBU et qui se fait selon plusieurs techniques (cf matériel et méthodes) à savoir.

- le prélèvement naturel physiologique quand le sujet est coopératif.
- De sondage vésical quand le sujet est non coopératif.
- Le prélèvement chez l'enfant.
- Le prélèvement chez les porteurs de sonde à demeure.
- La ponction sous pelvienne.

L'ECBU se poursuivra de la manière suivante :

✓ L'examen macroscopique

Il nous renseigne sur les caractères organoleptiques de l'urine.

L'urine normale est jaune pâle, limpide. Cet examen macroscopique n'a qu'une valeur d'orientation. Certains biologistes ne lui trouvent aucun intérêt.

✓ L'examen microscopique :

Il comprend 2 volets :

- Un volet cytologique qui est d'abord quantitatif : la numération se fera sur les urines totales à l'aide d'une cellule genre MALASSEZ.

Le résultat est exprimé en leucocytes ou hématies / mm³

Qualitativement, l'examen se fera sur le culot de centrifugation des urines.

Les cellules qu'on pourra rencontrer sont :

- Les hématies
- Les polynucléaires
- Les lymphocytes
- Les cellules rénales rondes
- Les cellules vésicales en raquette

- Les cellules endothéliales
- Trichomonas vaginalis
- Les spermatozoïdes
- Des levures
- Des cristaux
- Des cylindres

- Un volet bactériologique :

Il est qualitatif et se pratiquera sur le culot de centrifugation.

La coloration de Gram déterminera :

- Le mode de groupement
- L'activité tinctoriale
- L'abondance
- L'homogénéité morphologique

✓ **L'uroculture**

Elle est quantitative et qualitative.

Elle permet de dénombrer les bactéries et d'isoler la ou les bactéries en cause en vue de l'identification et de la réalisation de l'antibiogramme.

- Le dénombrement = DGU

DGU = dénombrement des germes urinaires

La technique la plus utilisée est celle de la lame immergée.

- La Bactériologie qualitative

Elle permet l'identification de la ou des bactéries et l'élimination des bactéries de souillure.

II-1-2-2 Le sang

- **Physiopathologie**

Le sang est prélevé pour réaliser des hémocultures. Ces dernières étant généralement réalisées devant toute fièvre non expliquée et devant tout syndrome clinique évocateur même quand la fièvre est isolée.

Elles sont également faites dans des cas d'hypothermies qui peuvent signifier des septicémies à Gram (-) qui traduisent un état infectieux particulièrement sévère.

Il y a 2 mots à différencier :

- ✓ La bactériémie = passage transitoire et bénin des bactéries dans le sang .
- ✓ La septicémie bactérienne accompagnée d'un syndrome infectieux généralisé et sévère.

- **Examen bactériologique**

Il repose sur un examen macroscopique quotidien des ballons d'hémoculture, et également sur un examen microscopique.

L'examen microscopique, en cas de positivité, va montrer un trouble du liquide avec parfois une hémolyse du culot hématique qui s'est déposé au fond du tube.

Ce trouble est très évocateur.

Les souches identifiées après interprétation sont soumises à un antibiogramme.

II-1-2-3 Les pus

- **Physiopathologie**

Sous ce terme de pus, on considère les prélèvements de produits pathologiques hétérogènes, provenant d'infections de localisations différentes et mettant en cause de nombreux agents infectieux.

Ces infections peuvent être classées en 3 rubriques :

- Pus provenant d'infections superficielles = escarres, brûlures, plaies

Traumatiques et chirurgicales.

- Pus provenant des infections profondes = abcès sous cutanés ou viscéraux,

adénites

- Pus provenant des infections des séreuses = infections de la plèvre, du

péritoine, des articulations, du péricarde.

- **Examen bactériologique**

Il comprend plusieurs étapes :

+ **l'examen macroscopique** permet de noter :

- La consistance du produit
- La couleur
- L'aspect sanglant
- L'odeur
- La présence de grains.

+ **L'examen microscopique** permet :

- De déterminer la cytologie
- De rechercher la présence des bactéries en particulier :
 - ✓ Leur abondance
 - ✓ La diversité
 - ✓ La prédominance d'une espèce.

Il faut réaliser pour cela une coloration de ZIELH NIELSEN pour tout pus amicrobien.

+ **l'ensemencement** : on ensemence une gamme de milieux en fonction des résultats de l'examen microscopique.

Quand l'examen direct est négatif, on ensemence des milieux enrichis.

Les colonies qui sont apparues sur les milieux d'isolement sont d'abord purifiées soumettre à un antibiogramme.

II-2 Les germes de l'atmosphère (33)

Les prélèvements des germes de l'atmosphère ne sont pas de réalisation courante, mais représentent une place importante pour le diagnostic, la prévention et le traitement des infections nosocomiales. La méthode la plus couramment utilisée est la méthode d'ensemencement en boîte de pétrie, méthode simple ne nécessitant aucun matériel spécial ;

Mais étant donné que la taille des particules en milieu hospitalier varie de 10 à 15 μm (35), les colonies présentes dans les boîtes de pétrie ne permettent pas de faire une appréciation globale de tous les germes présents dans l'air ambiant, d'où la nécessité d'utiliser des techniques de prélèvement plus sophistiquées dites techniques volumétriques qui permettent de dénombrer l'ensemble des bactéries.

II-3 Le manuyportage et le matériel médical

Les prélèvements sur le personnel hospitalier ainsi que les catheters portant la mention « Stérile » sont effectués lors d'enquêtes et de programmes de contrôle (94).

Par contre, les objets comme les matériels d'anesthésie, les stéthoscopes, doivent faire l'objet d'actes de routine du fait qu'ils constituent une source directe de contamination. Ces germes seront ensuite isolés puis identifiés.

Tous les germes isolés, aussi bien dans les produits pathologiques que dans l'atmosphère, le manuportage et le matériel médical, seront identifiés par des caractères biologiques qui sont ceux effectués en routine au laboratoire, mais il existe un ensemble d'examens permettant une meilleure identification de la souche bactérienne.

Parmi ces examens, nous avons l'antibiogramme ; on parle de phénotypage.

II-4 Phénotypage = Caractérisation des souches

II-4-1 antibiotypie

Elle permet la détermination de la sensibilité des germes aux antimicrobiens.

L'étude des profils de sensibilité se fera par deux principales méthodes :

- La méthode de diffusion en milieu gélosé = antibiogramme standard
- La détermination de la CMI

II-4-1-1 Antibiogramme

Il apprécie la modification de la croissance d'une souche bactérienne en présence d'antibiotique, la croissance bactérienne se traduisant par la variation de paramètres divers quantifiables.

Il permet de classer la bactérie selon 3 profils :

- Sensibilité
- Intermédiaire
- résistance

L'antibiogramme constitue l'étape ultime de l'examen cytot bactériologique, mais également le plus important car il permet d'établir un schéma thérapeutique.

II-4-1-2 Détermination de la CMI

La CMI se définit comme la plus faible concentration d'antibiotiques inhibant entre 18 à 24 heures la multiplication des bactéries.

Elle permet également de classer une bactérie selon qu'elle soit sensible, intermédiaire ou résistante, et présente une grande importance dans les états infectieux sévères.

II-4-2 Sérotypie

C'est l'étude de la variabilité d'un déterminant antigénique précis d'une souche donnée.

Les réactions immunologiques sont fréquemment utilisées pour le typage de la plupart des bacilles Gram négatif, en particulier *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les méthodes de typage des antigènes capsulaires de *Staphylococcus aureus* ont été récemment améliorés (5,101).

Le sérotypage sert également à l'identification d'autres bactéries, aussi bien en épidémiologie qu'en matière de recherche (1).

II-4-3 Biotypie (113,60).

Les procédés d'identification des sous groupes de bactéries, basés sur les réactions biochimiques caractéristiques, sont couramment utilisés.

Les schémas de différenciation basés sur ces méthodes sont valables pour une variété de bactéries comprenant aussi bien les aérobies que les anaérobies.

Le manque de précision des réactifs commercialisés, peut limiter l'utilisation de ces méthodes.

Cependant, ces profils sont encore utilisés, mais ils sont combinés à des modèles d'analyse de sensibilité antimicrobienne qui permettent de faire la distinction entre les différents isolats.

II-4-4 Lysotypie

C'est l'étude de la sensibilité au bactériophage.

Cette étude concerne la plupart des bactéries responsables d'infections nosocomiales.

La technique est spécialement adaptée au typage des souches de *Staphylococcus aureus* (113).

Ce procédé est habituellement utilisé dans les laboratoires de référence.

Le transfert de plasmides par le bactériophage peut interférer dans l'interprétation des résultats (23).

II-4-5 Bactériocinotypie

Les bactériocines sont des substances élaborées par certaines bactéries et qui peuvent inhiber la croissance d'autres bactéries.

Donc la production de telles substances par une souche épidémique ou la sensibilité de la bactérie en question aux produits sécrétés par

d'autres bactéries peut être utilisée comme une méthode de typage pour un certain nombre de micro-organismes.

La méthode demande un usage soigneux des contrôles et un accord universel de la standardisation des réactifs.

II-4-6 Plasmides de résistance (19)

Ce sont des DNA extra chromosomiques qui sont capables d'auto-réplication.

Les plasmides sont transmis à une autre bactérie par conjugaison ou transduction.

L'analyse plasmidique a été utilisée pour la première fois pour expliquer la survenue de résistance inhabituelle aux antibiotiques.

Les plasmides peuvent être typés par digestion à l'aide d'une endonucléase de restriction.

Ces enzymes de restriction reconnaissent les séquences nucléotidiques spécifiques sur le DNA et produisent des fragments de DNA double brins. Il y a au moins 36 de ces enzymes pour lesquelles la reconnaissance spécifique de la séquence et le clivage ont été bien définis.

Cependant, les techniques sont si encombrantes que leur utilisation est limitée.

II-4-7 Ribotypie (96,106).

Elle consiste en l'analyse électrophorétique des fragments de restriction des RNA ribosomiques.

Elle peut être utilisée comme marqueur épidémiologique des souches d'espèces bactériennes variées, mais surtout celles de *Staphylococcus aureus*.

II-4-8 Toxinotypie

Les toxines sont des substances libérées par une bactérie. Ces substances peuvent être de nature protéique ou lipopolysaccharidique. Ces toxines peuvent varier d'une souche à une autre. La toxinotypie nous renseigne sur le profil électrophorétique de différentes toxines.

II-4-9 Zymotypie (17,71,22,96)

C'est un caractère taxonomique qui utilise le polymorphisme enzymatique d'une souche. Certaines souches bactériennes peuvent être caractérisées par leurs protéines de structure ou par les protéines sécrétées.

Dans le des staphylocoques, en particulier *Staphylococcus aureus*, les souches bactériennes peuvent être différenciées par le profil électrophorétique sur gel d'acrylamide des estérases.

Généralement, 3 groupes d'estérases A, B et C correspondant à des souches d'origine géographique différente sont décrites.

II-4-10 Pulsotypie (96,106,53)

L'analyse d'ADN génomiques des staphylocoques est une méthode de référence pour la caractérisation des différentes espèces.

Elle consiste en une analyse électrophorétique des fragments de restriction du DNA chromosomique dans un champ électrique pulsé. Tout ce que nous avons vu dans ce chapitre constitue des méthodes directes de diagnostic mais nous avons aussi des méthodes indirectes encore appelées méthodes séro-immunologiques qui sont à la fois des méthodes de diagnostic d'infections virales et d'infections bactériennes.

II-5 Méthodes indirectes de diagnostic : Méthodes séro-Immunologiques

Elles sont basées sur :

- Le dosage des cytokines de l'inflammation IL1, IL6, TNFalpha, INFgamma.
- La mise en évidence d'une réaction antigènes – anticorps invisible.

II-5-1 Dosage des cytokines de l'inflammation : IL1, IL6, TNFalpha, IFNgamma (32)

De nombreuses cytokines sont retrouvées au sein des foyers inflammatoires.

Deux d'entre elles : l'Interleukine I (IL1) et le Tumor Nécrosis Factor (TNFalpha) constituent les chefs d'orchestre des mécanismes de l'inflammation. Sous leur action, de nombreuses cellules produisent des médiateurs lipidiques, des enzymes protéolytiques, des radicaux libres et autant de facteurs directement responsables des effets délétères observés.

Elles possèdent des activités cytotoxiques vis à vis de l'épithélium vasculaire, le cartilage, l'os, le muscle et les îlots de Langerhans.

Pour amplifier la réponse immunitaire, IL1, et TNFalpha verront leur production augmentée par des cytokines tels que l'IFNgamma, l'IL₃ ou le Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF).

D'autres cytokines comme IL₆ et IL₈, jouent un rôle plus cible au cours des réactions inflammatoires.

II-5-2 Mise en évidence d'une réaction antigène-anticorps (Ag-Ac) invisible

Pour visualiser cette réaction, on introduit un élément supplémentaire ou bien, on se met dans certaines conditions qui permettent de tirer partie d'une propriété particulière de l'Ag ou de l'Ac : $Ag + Ac \longrightarrow (Ag-Ac)$.

Ces réactions sont les suivantes :

II-5-2-1 Réactions d'immunofluorescence

Elles consistent à faire réagir les sérums étudiés sur les antigènes figurés, déposés sur des lames.

Après incubation et lavage, les éventuels Ac sont révélés par des antiglobulines conjugués à une substance fluorescente.

II-5-2-2 Réaction de fixation du Complément

On utilise le fait que lorsque l'ensemble des éléments qui forment le système du complément est en présence d'un complexe Ag-Ac, dont l'Ag est cellulaire et l'Ac capable de fixer le complément.

La réaction Ag-Ac va alors aboutir à la lyse de la cellule antigénique et on peut ainsi, en prouvant la réalité d'une réaction Ag-Ac invisible, montrer que cette réaction a fixé le complément pour permettre l'hémolyse dans un système hémolytique.

Cette réaction Ag-Ac est une réaction à 5 composantes :

- L'Ag
- L'Ac
- Le complément
- Le système hémolytique constitué par exemple de globules rouges de

mouton et des Ac antiglobules rouges de mouton.

- Les hématies

II-5-2-3 Hémagglutination passive

Elle consiste à mettre en présence diverses dilutions de sérums étudiés et d'hématies jouant le rôle de particules inertes à la surface desquelles ont été fixées des antigènes.

La plupart du temps, le test est pratiqué en plaque de microtitration à fond rond.

II-5-2-4 Réactions de précipitations

Elles se définissent par une réaction Ag-Ac qui a deux caractéristiques :

- ✓ Il faut que l'Ag soit soluble
- ✓ Il faut que l'Ac soit précipitant

Alors le mélange en proportion convenable de la solution antigénique et de l'Ac va entraîner, au bout d'un certain temps, un précipité.

Cette réaction Ag-Ac s'explique par la théorie du réseau.

Parmi ces réactions, on peut citer :

- + la réaction d'Ouchterlong
- + l'immuno électrophorèse
- + l'électrosynérèse = contre immuno électrophorèse

II-5-2-5 Réaction immuno enzymatique = Technique ELISA

C'est la technique de titrage avec absorbant lié à l'enzyme qui utilise une couche d'Ag de capture sur un support. Ce qui va permettre de capturer l'Ac qui est détecté par ce qu'on appelle un conjugué, c'est à dire une antiglobuline couplée à l'enzyme et la révélation se fait grâce à un substrat qui entraîne une réaction chlorométrique proportionnelle à la quantité d'anticorps recherchée.

Les substrats les plus utilisés sont : la Péroxydase et la Phosphatase.

III AGENTS RESPONSABLES ET FACTEURS DE RISQUE

III-1 Agents responsables

L'hôpital est un milieu où règne un va et vient de toute personne confondue (âge, race, sexe) ; d'où une prolifération accrue des germes microbiens dans l'atmosphère hospitalier qui attaquent avec prédilection les sujets immuno-déficients.

Du fait de leur virulence, ils sont extrêmement difficiles à combattre, d'où la nécessité d'une étude sérieuse qui permettra d'établir une prophylaxie et une thérapeutique adéquates.

Les principaux germes rencontrés sont :

- Les cocci Gram positif constitués par les staphylocoques qui sont des germes

commensaux de la peau et des muqueuses qui ne sont jamais saprophytes et sont également retrouvés dans le milieu extérieur avec une prédominance de *Staphylococcus aureus*.

Ce groupe des cocci Gram positif est également constitué par les Streptocoques (notamment les entérocoques) qui sont ubiquitaires.

- les bacilles Gram négatif parmi lesquels les plus rencontrés sont :

- Les Klebsielles notamment *Klebsiella pneumoniae*
- *Escherichia coli*
- Les pseudomonas (*Pseudomonas aeruginosa*)

Au second plan, nous avons les Entérobacter, les proteus.

Ces entérobactéries sont retrouvées au niveau du tube digestif, mais cette niche écologique n'est pas exclusive car on peut la retrouver dans le milieu extérieur (eau, sol, air).

III-2 Facteurs de risque

La fréquence des infections nosocomiales peut s'expliquer par certains facteurs que l'on peut classer de la manière suivante :

III-2-1 Facteurs antibiothérapeutiques

En effet, le développement de l'antibiothérapie et surtout son maniement inadéquat jouent un rôle prépondérant dans la survenue des infections nosocomiales.

Les antibiotiques favorisent l'infection secondaire, notamment les céphalosporines qui sont des antibiotiques à large spectre.

En effet, ils peuvent entraîner une rupture de l'équilibre physiologique de la flore microbienne en inhibant la multiplication de certains germes au profit d'autres souches susceptibles de jouer un rôle pathogène.

III-2-2 Les autres portes d'entrée

- les facteurs liés à la chirurgie :

la découverte de la chirurgie a permis d'allonger la durée de vie des individus, mais dans certains cas, elle peut la raccourcir.

Le facteur le plus important est la durée de l'intervention : plus elle est longue, plus les risques d'infections sont élevés.

Mais il y a également la stérilité des instruments utilisés (Gants, Cathéters, Sondes, Ciseaux, Bistouri, Aiguilles, Seringues, Solutions).

Il faut noter que le maintien de la stérilité ne peut se faire à 100%.

Si on prend, par exemple, le cas des gants, tant qu'il sont dans la boîte, ils sont stériles ; mais une fois la boîte ouverte, la stérilité ne peut plus être garantie parce que la stérilité du bloc opératoire n'est pas évidente.

Il y a également les blouses, notamment celles à manches longues qui peuvent se tâcher de sang car n'étant pas recouvertes par les gants, s'humidifient, et de ce fait, deviennent perméables et donc favorisent la prolifération des germes, d'où l'hypothèse d'utiliser des gants de type obstétrical à poignets longs ou encore des manches de coton imperméables (25).

- Les facteurs liés aux malades :

- Les immuno déprimés
- Les enfants
- Les vieillards qui constituent des terrains favorables

- Les facteurs généraux

- Le ménage mal fait

- Le mauvais usage des produits nettoyants et désinfectants .
- La désinfection insuffisante
- La mauvaise organisation des circuits de distribution du matériel propre et d'élimination du matériel sale
- L'entassement des malades
- La longue durée d'hospitalisation

IV- CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES

La classification repose sur leur structure chimique et leur mécanisme d'action, lesquels conditionnent leur spectre d'activité (44,72). Nous insisterons ici sur la classification basée sur le mécanisme d'action.

IV-1 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane

Le peptidoglycane (muréine ou mucopeptide) est un constituant essentiel de la paroi des bactéries. Il lui confère une rigidité ou une résistance physique lui permettant de faire face aux différentes agressions. C'est un hétéropolymère dont la composition est la suivante : (7,44) :

- chaînes polysaccharidiques faites d'une alternance de N-acétyl-glucosamine et d'acide N-acétyl-muramique.
- chaînons térapeptidiques (contenant de la L-alanine, D-alanine, de l'acide D-glutamique et de la L-lysine ou de l'acide diamino pimélique) branchés sur l'acide N-acétyl muramique.

- **La fosfomycine** : elle inhibe la pyruvyl transférase par conséquent la combinaison du phosphoenol-pyruvate avec l'UDP-Nacétyl glucosamine (7).
- **La D-cyclosérine** : elle inhibe de façon compétitive l'alanine racemase et la D-alanyl-D-alanyl synthetase empêchant ainsi la formation de l'UDP N-acetyl muramylpentapeptide.
- **La bacitracine** : elle est uniquement active sur les bactéries Gram positif. Elle se combine au lipide transporteur des nucléotides précurseurs de la synthèse du peptidoglycane (44,7).
- **La vancomycine** : elle forme un complexe avec l'extrémité D-ala-D-ala du N-acétyl muramyl pentapeptide empêchant la fixation de ce dernier sur la chaîne de peptidoglycane en formation.
- **Ristocétine et teicoplanine** : elles sont très proches de la vancomycine.
- **Les bêtalactamines** : c'est une famille très prolifique d'antibiotiques dont le premier représentant la pénicilline G est à la base de l'antibiothérapie. La structure du noyau de base comporte toujours le cycle bêtalactame. Les antibiotiques appartenant à cette famille sont répartis en trois groupes :
 - pénams-carbapenems-oxapenams
 - cepheids-oxaceheids
 - monobactams

Les bêtalactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane notamment la transpeptidation par analogie structurale avec le dipeptide D-ala-D-ala (72). Les cibles des bêtalactamines sont des protéines insérées sur la face externe de la membrane

cytoplasmique. Leur nombre varie selon l'espèce bactérienne (4 chez *S. aureus*). Les bétalactamines ont habituellement un effet bactéricide qui résulte sauf exception d'une lyse bactérienne consécutive à l'activation des enzymes autolytiques de la bactérie (7).

IV-2 Antibiotiques actifs sur les membranes

Il peut s'agir de la membrane externe de la paroi des bactéries à Gram négatif ou de la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif. Ces antibiotiques désorganisent la membrane en se combinant avec notamment les phospholipides qui les constituent. Il s'agit :

- des polymixines
 - . polymixine B
 - . polymixine E (colistine)
- des gramicidines et tyrocidines

IV-3 Antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques

- **Macrolides, lincosamines, streptogramines** : les MLS sont de structure chimique différente mais ils s'apparentent par leur spectre d'activité, leur mécanisme d'action et par les phénomènes de résistance. Ils inhibent la synthèse des protéines au niveau du ribosome. Ils se fixent tous au niveau de la sous unité 50S (7,44,72).
- **Aminosides** : les aminoglycosides perturbent la synthèse protéique au niveau du ribosome, en particulier au niveau de la sous unité 30S pour la streptomycine.
- **Tétracyclines** : leur action se traduit par une inhibition des synthèses protéiques au niveau des ribosomes. Ils se lient aux protéines de la

sous unité 30S mais peuvent aussi se lier en faible proportion aux protéines de la sous unité 50S (7).

- **Chloramphénicol** : il inhibe la synthèse des protéines en se liant de façon réversible aux ribosomes, en particulier au site A de la sous unité 50S.
- **Acide fusidique** : il agit sur la synthèse protéique en inhibant le facteur d'élongation G (translocase), bloquant ainsi la traduction de l'ARN messager au niveau de la sous unité 50S du ribosome (40).

IV-4 Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques

- **Rifamycines** : les rifamycines sont les seuls antibiotiques de la famille des Ansamycines utilisés en thérapeutique (44). Deux produits sont utilisés :
 - la rifamycine
 - la rifampicine

Les rifamycines se fixent sur l'ARN polymérase ADN dépendante (transcriptase) des bactéries et bloquent la synthèse de l'ARN messager au stade d'initiation (7,44).

- **Quinolones** : les produits récents de cette famille sont particulièrement intéressants parce qu'ils élargissent le spectre d'activité vers les cocci à Gram (+) notamment. A l'image de l'acide nalidixique, ils inhibent la synthèse de l'ADN par blocage de l'activité de la sous unité alpha de l'ADN gyrase.
- **Novobiocine** : elle inhibe la réplication de l'ADN en empêchant la fixation de l'ATP sur la sous unité B de l'ADN gyrase.
- **Nitro-imidazolés** : leur activité passe par une réduction in vivo de leur groupement nitro (-NO₂). Ils se fixent sur l'ADN au niveau des régions

riches en adénine et thymine, provoquant des coupures de brins et un déroulement de l'ADN.

- **Nitrofuranes** : ces antibiotiques de synthèse ont un spectre très large mais *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*, *Serratia* et *Acinetobacter* sont résistants. Leur action nécessite également la réduction du groupement nitro. Ils réagissent de façon électrostatique sur l'ADN provoquant ainsi des coupures et des substitutions de bases.

IV-5 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates

Contrairement aux mammifères qui peuvent synthétiser de *ново* les folates, les bactéries à l'exception d'*Enterococcus faecalis* n'assimilent pas les folates exogènes.

- **Sulfamides** : les sulfamides inhibent de façon compétitive la dihydroptéroate

synthétase en raison de leur analogie de structure avec celle du PAB.

- **Les 2-4 diaminopyrimidines** : ils agissent par inhibition des dihydrofolates réductases bactériennes. Il faut environ 50 mille fois leur concentration thérapeutique pour perturber la DHFR de l'hôte.
- **Association sulfamides-diaminopyrimidines** : à l'image du cotrimoxazole, ces associations sont souvent synergiques et bactéricides si la souche est sensible aux deux composés.

- **Autres antifoliques**

- Les sulfones : les sulfones sont des analogues structuraux de l'acide para aminobenzoïque et des inhibiteurs compétitifs de la dihydroptéroate synthétase.
- L'acide para aminosalicylique (PAS) : c'est un anti tuberculeux mineur analogue

structural du PAB.

IV-6 Antibiotiques anti tuberculeux

Plusieurs produits sont utilisés. L'isoniazide, la rifampicine, la streptomycine et le pyrazinamide sont bactéricides tandis que l'ethambutol et les thiosemicarbazones sont bactériostatiques.

V / MECANISMES DE RESISTANCE ET PHENOTYPES DE RESISTANCE

V-1 Définitions

V-1-1 Notion de résistance

Pour chaque antibiotique, est défini un spectre d'activité c'est à dire l'éventail des espèces bactériennes « sensibles », susceptibles d'être inhibées par des concentrations de cet antibiotique (surtout in vivo après utilisation d'une posologie standard).

Une espèce non sensible, qui n'entre pas dans le spectre d'activité d'un antibiotique, est dite résistante.

Cette résistance est liée à un ou plusieurs mécanismes biochimiques qui impliquent l'étude des interactions entre l'antibiotique et les voies métaboliques de la bactérie.

Plusieurs définitions de la résistance des bactéries aux ATB ont été retenues.

Selon certains auteurs :

- Une souche est dite résistante lorsqu'elle supporte une concentration d'ATB,

notamment plus élevé que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce **(78)**.

- Une souche est dite résistante lorsque la concentration d'ATB qu'elle est capable de supporter, est notamment plus élevée que la concentration pouvant être atteinte in vivo **(78)**.
- Une bactérie résiste à un ATB lorsqu'une modification de son capital génétique lui permet de croître en présence d'une concentration significativement plus élevée de cet ATB **(20)**.

V-1-2 Type de résistance

V-1-2-1 Résistance naturelle

La résistance naturelle ou « intrinsèque » correspond à la résistance de toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre bactérien à un antibiotique **(98)**.

Le mécanisme de cette résistance est variable mais son support génétique est généralement chromosomique. La résistance naturelle fait partie du patrimoine génétique habituel de l'espèce.

On peut citer les résistances naturelles de *Staphylococcus aureus* et des entérobactéries aux β -lactamines (Pénicilline G, Ampicilline et

Céphalosporines) , des streptocoques (*Streptococcus sp*) aux aminosides .

V-1-2-2 Résistance acquise

Elle correspond à l'acquisition d'une résistance à un ATB par une souche normalement sensible. Elle n'apparaît que chez quelques

souches d'une espèce donnée normalement sensible, à l'inverse de la résistance naturelle qui est caractéristique de l'espèce (21).

Elle est évolutive et varie en fonction du temps, de la localisation et de l'utilisation des ATB.

L'acquisition de la résistance peut être liée à un apport plasmidique ou à une mutation chromosomique.

Cette résistance acquise observée in vitro et in vivo pour la plupart des bactéries et des ATB, rend nécessaire l'étude de la sensibilité des bactéries au laboratoire.

V-1-2-3 Résistance clinique

Elle se traduit par l'échec thérapeutique.

Plusieurs facteurs entrent en cause dans ce type de résistance :

- Facteurs environne mentaux
- La pharmacocinétique
- Le choix judicieux de l'ATB
- Les mécanismes développés par les bactéries.

V-1-3 Support génétique (82)

Au plan génétique, la résistance acquise peut survenir par mutation ponctuelle, par remaniement du génome ou par acquisition de matériel génétique étranger.

Il existe deux supports essentiels.

V-1-3-1 Résistance chromosomique

❖ Résistance chromosomique par mutation

Il peut s'agir d'une mutation ponctuelle dans un gène de résistance entraînant par exemple une hypersécrétion d'enzymes inactivant les antibiotiques ou dans un gène de structure qui modifie le spectre d'une enzyme .

une mutation se caractérise par :

- La rareté
- La spontanéité
- La discontinuité
- La spécificité et l'indépendance
- La stabilité

❖ Résistance chromosomique par remaniement

Il peut s'agir d'un remaniement du génome. A titre d'exemple, il peut s'agir de l'insertion de séquences apportant un promoteur permettant d'exprimer des gènes silencieux ou alors de l'acquisition de fragments de chromosomes étrangers par transformation.

V-1-3-2 Résistance extrachromosomique

L'information génétique est portée par des plasmides transférables à d'autres bactéries par conjugaison, par traduction ou par transformation (82).

L'ensemble de ces gènes peuvent être sur des fragments d'ADN appelés transposons qui peuvent s'intégrer soit dans des plasmides, soit dans le chromosome en allant de l'un à l'autre.

V-1-4 Phénotype de résistance

C'est un groupe, un ensemble d'ATB permettant au mieux, avec le plus de précision possible de préjuger des mécanismes de résistance dont dispose une bactérie donnée et notamment mais pas exclusivement de son équipement enzymatique (95).

Au sein de chaque espèce, on distingue le phénotype sauvage ou sensible, déterminé par les mécanismes naturels de résistance, et les phénotypes résistants déterminés par des mécanismes acquis de résistance (65).

V-2 Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

Trois mécanismes principaux sont responsables de la résistance aux ATB :

- Modification de la cible aux ATB.
- Synthèse d'enzymes inactivant les ATB.
- Diminution de la perméabilité bactérienne entraînant une concentration d'ATB insuffisante dans l'espace périplasmique ou dans le cytoplasme.

Les modifications de la cible peuvent être dues soit à une substitution de la cible au profit d'une autre cible, soit à une diminution de l'affinité de la cible pour l'ATB.

Une diminution de la quantité d'ATB à l'intérieur de la bactérie peut être due soit à une diminution de la perméabilité bactérienne vis à vis de l'antibiotique, soit à un afflux actif de l'ATB de l'intérieur vers l'extérieur de la bactérie.

Plusieurs de ces mécanismes de résistance peuvent coexister chez une même bactérie et agir en « synergie », conférant une résistance plus élevée aux ATB d'une famille mais également, surtout en cas de modification de perméabilité, à des ATB de familles différentes.

V-2-1 Résistance aux β -lactamines

V-2-1-1 Mécanisme d'action des β -lactamines

Les β -lactamines se fixent sur des protéines logées sur la membrane bactérienne, les protéines de liaison de la pénicilline (PLP).

La synthèse du peptidoglycane est inhibée au cours de la transpeptidation pour l'assemblage final produisant la structure en réseau de la paroi.

V-2-1-2 Mécanismes de résistance aux β -lactamines

V-2-1-2-1 Résistance par production d'enzymes (6,10,13,11,24,108,112)

La production d'enzymes capables d'inactiver les β -lactamines, demeure le mécanisme de résistance le plus largement distribué parmi les nombreuses espèces bactériennes.

Plusieurs types d'enzymes peuvent être à l'origine de l'inactivation de ces ATB.

La production de β -lactamases s'est observée chez presque toutes les espèces bactériennes **(78)**.

- Les Béta-lactamases **(82)**

Ce sont des enzymes d'inactivation du cycle bêta-lactame.

La découverte, dès 1940, d'extraits bruts de bacilles à Gram négatif (*Escherichia coli*), inactivant la benzylpénicilline montra l'existence d'un mécanisme de résistance par synthèse de « pénicillinase ».

Le terme β -lactamase n'a été proposé qu'en 1960.

La pénicillinase de *S. aureus* sera mise en évidence dès 1944 ; après , l'émergence de la résistance enzymatique ne devrait plus s'arrêter .

La diversité des β -lactamases oblige à une identification de plus en plus précise, permettant une meilleure classification.

Plusieurs classifications des β -lactamases ont été proposées (10,18,103) selon les propriétés physico-chimiques, la nature de leurs inhibiteurs, leur localisation génétique (plasmide ou chromosome), leurs hôtes habituels, la séquence nucléotidique de leurs gènes ou leur composition en acides aminés, leurs localisations bactériennes (exocellulaires périplasmiques).

La classification la plus utilisée est celle de Richmond et SYKES (15).

Schématiquement, les β -lactamases peuvent être individualisées en pénicillinases et céphalosporinases :

+ Les pénicillinases :

Elles hydrolysent préférentiellement les pénicillines.

Une faible action peut être observée avec les céphalosporines de première génération.

Les gènes codant pour les pénicillines sont portés essentiellement par les plasmides.

Cependant, on retrouve chez *Klebsiella pneumoniae*, une enzyme type pénicillinase : SHV-1 dont le support génétique est le chromosome.

Ces pénicillinases sont fabriquées en permanence par la bactérie en absence de tout indicateur sauf celle de *S. aureus*.

Il existe une très grande variété de pénicillinases : TEM, SHV, OXA, PSE. Elles peuvent être spécifiques à un genre (pénicillinases de *S. aureus*) ou largement distribuées.

L'enzyme de type TEM est retrouvée chez les entérobactéries, les haemophilus, les Neisseria, les Pasterella, les Pseudomonas. Elle inactive les aminopénicillines, les carboxypénicillines, les ureidopénicillines. En cas de production importante de ce type d'enzyme, les céphalosporines de deuxième génération peuvent être hydrolysées (82). Ces β -lactamases sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique et le tazobactam (82).

Une augmentation importante de la production de β -lactamases peut là aussi être responsable de la résistance aux inhibiteurs de β -lactamases. Sous la pression de sélection de ces inhibiteurs, des dérivés de TEM porteurs de mutations ponctuelles et possédant une plus faible affinité pour les inhibiteurs de β -lactamases sont apparus depuis 1989. Ces β -lactamases résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases sont appelées IRT (Inhibitor Resistant TEM) (82).

Comme les enzymes IRT, les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) dérivent par mutations ponctuelles de β -lactamases déjà connues, essentiellement TEM ou SHV.

L'apparition de ces BLSE date de 1983.

Les BLSE peuvent être retrouvées chez toutes les entérobactéries mais plus particulièrement chez *Klebsiella pneumoniae*. Leur particularité est d'hydrolyser les céphalosporines de troisième génération et l'aztreonam (82) mais elles ne touchent ni les céphamycines (céfotetan) céfoxitine, latamoxyl) ni les carbopénèmes. Elles sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases.

+ Les céphalosporinases :

elles sont généralement chromosomiques et inductibles.

Leur production peut cependant devenir constitutive chez *Serratia* Spp, les *enterobacter* Spp, les *citrobacter*, les *Proteus indole plus*, les *Pseudomonas* et d'autres organismes comme les *Acinétobacter*.

Ces céphalosporinases, codées par un gène appelé AMPc, hydrolysent préférentiellement les céphalosporines plutôt que les pénicillines. A l'état basal, ces céphalosporinases touchent essentiellement les céphalosporines de première génération.

La résistance naturelle vis à vis de la céfoxitine est la conséquence de l'induction très importante de la céphalosporinase par cet antibiotique.

La production normalement inductible de ces céphalosporinases est sous le contrôle de différents gènes qui, s'ils sont mutés, vont aboutir à une hyperproduction spontanée de niveaux variables de la céphalosporinase. Une fois hyperproduites, elles peuvent hydrolyser les céphalosporines de troisième génération et entraîner la résistance à ces antibiotiques.

Actuellement, 20% des *Enterobacter* produisent constitutivement une céphalosporinase et sont résistants aux céphalosporines de troisième génération.

Depuis 1990, des céphalosporinases codées par des gènes plasmidiques, ont été décrites. Parmi celles-ci, il y a : MIR-1 ; BIL-1 ; et CMY-2 (82).

+ Certaines souches de *pseudomonas aeruginosa* de *Serratia marcescens*,

d'*Enterobacter* et de *bactéroïdes fragilis* peuvent produire une carbapénémase, généralement chromosomique, hydrolysant les carbapénèmes (imipénème et méropénème) (82).

- Les Estérases (46)

Ces enzymes amino coupent la chaîne latérale des céphalosporines les rendant inactifs.

- Les Amidases (46)

Elles hydrolysent la chaîne latérale des β -lactamines et libèrent l'acide-amino-7 céphalosporinique dans le cas des céphalosporines et de l'acide -6-pénicillanique dans le cas des pénicillines.

V - 2-1-2-2 Résistance non enzymatique aux β -lactamines (46).

Les mécanismes de résistance non enzymatique aux β -lactamines s'opposent aux mécanismes de résistance enzymatique liés à la production de β -lactamases. Ils sont différents chez les bactéries à Gram positif ou négatif.

▪ Chez les germes Gram positif

Chez ces germes, c'est la modification des PLP qui représente le mécanisme principal de la résistance non enzymatique (48).

Plusieurs PLP sont présentes dans chaque espèce et parmi celles-ci, il existe une PLP dite "essentielle" dont l'affinité pour les β -lactamines est corrélée à la CMI (59).

Plusieurs types de modifications peuvent être rencontrées (tableau II) :

- La diminution de l'affinité de la PLP essentielle pour les β -lactamines. Dans ce

cas l'affinité est diminuée pour toutes les β -lactamines mais de manière inégale selon les molécules.

Une telle modification a été démontrée avec la PLP-1 de *Clostridium perfringens*, modification qui s'accompagne d'une augmentation d'un facteur 100 de la CMI pour la pénicilline et d'un facteur 10.000 pour la céfotaxime (129).

- L'augmentation de la quantité de PLP

Ce mécanisme a été bien étudié chez *Enterococcus faecium*. On a démontré que la PLP-5, présente en faible quantité dans les souches

sensibles, augmente quantitativement d'un facteur 10 à 20 dans les souches résistantes et peut s'accompagner d'une diminution d'affinité pour les β -lactamines. Cette PLP prend la fonction de PLP essentielle par rapport aux autres.

- L'acquisition d'une nouvelle PLP qui va prendre un rôle de PLP essentielle. C'est le cas de *Staphylococcus aureus*, résistante à la méthicilline (48,58).

La résistance aux β -lactamines par modification des PLP est croisée pour toutes les β -lactamines.

- Chez les germes Gram négatif : Tableau III

La structure particulière des germes à Gram négatif leur confère un ensemble de mécanismes biochimiques de résistance aux β -lactamines qu'on peut ne pas trouver chez les germes à Gram positif.

Rôle de la perméabilité dans la résistance des germes à Gram négatif aux β -lactamines:

Contrairement aux germes à Gram positif où les peptidoglycanes ne représentent pas une barrière pour la diffusion des β -lactamines, il existe au dessus du peptidoglycane une barrière liée à la présence de la membrane externe (99).

Chez les germes à Gram négatif, la pénétration des β -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe constituée de phospholipides, s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau.

La sensibilité aux ATB dépend du nombre de porines fonctionnelles. C'est chez *Escherichia coli* que la relation entre les porines et les β -lactamines a été le mieux étudiée (64). Deux types de porines sont présentes chez *E. coli* (OmpC et OmpF).

Chez les mutants OmpC⁻, la pénétration des β -lactamines n'est pas diminuée car le diamètre de la porine OmpF est suffisamment large. Au contraire, l'absence de OmpF s'accompagne d'une résistance à la céfoxitime (4 \times la CMI) sans modification de la CMI pour la Céfaloridine.

**Tableau II = résistance liée à des modifications de PLP
chez les bactéries à Gram positif**

	ESPECES
Diminution d'affinité pour les β -lactamines	<i>C. perfringens</i> <i>S. pyogènes</i>
Augmentation de la quantité d'une PLP essentielle	<i>Entérocoques</i>
Acquisition d'une nouvelle PLP	<i>S. aureus</i>
Multiples modifications	<i>S. pneumoniae</i>

Tableau III = Mécanismes de Résistances non enzymatique aux β -lactamines chez les germes à Gram négatif

Modification de porines ou de protéines de la membrane externe	<ul style="list-style-type: none"> - Entérobactéries (<i>E.coli</i>, <i>E. cloacae</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Serratia</i>) - <i>Pseudomonas</i> - <i>Haemophilus</i> - gonocoque
Modification des PLP	<ul style="list-style-type: none"> - <i>E. coli</i> - <i>Pseudomonas</i> - <i>Haemophilus</i> - Gonocoque
Modification des PLP	<i>Pseudomonas</i>

Ces résultats témoignent d'un passage préférentiel des β -lactamines à travers la porine OmpF car plus large. Quant aux mutants Omp C⁻, OmpF⁻, leur CMI est augmentée d'une manière très importante. Des résultats variables ont été obtenus pour les Céphalosporines de troisième génération (**31,104**) avec généralement une faible augmentation plus marquée pour le moxalactam (10-100 × la CMI). Ce mécanisme de résistance a été rapporté dans d'autres espèces : les Salmonelles, les Klebsielles, les Serratia et les Entérobacter (**54,56,99,104,110,116**).

Trias et Nikaïdo ont montré l'existence chez les Pseudomonas d'une porine (porine D2) responsable du transport spécifique des carbapénèmes et dont l'absence ou la fermeture explique la résistance isolée à l'imipénème non croisée aux autres β -lactamines ou aux antibiotiques hydrophiles.

Rôle des PLP dans la résistance des germes à Gram négatif aux β -lactamines

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

L'altération des PLP n'a été que rarement démontrée chez les germes à Gram négatif (**30,85,116**).

Le rôle des PLP dans la résistance bactérienne intrinsèque a été mis en évidence chez les mutants de *Escherichia.. coli* qui avaient une résistance augmentée au mécillinam et à l'imipénème, due à une diminution de l'affinité des PLP-2 pour les antibiotiques alors que les

mutations touchant la PLP-3 s'accompagnaient d'une résistance vis à vis des Céphalosporines (116).

V-2-1-2-3 Autres mécanismes de résistance aux β -lactamines

+ Altération du LPS

La modification de la composition du LPS soit dans le polysaccharide, soit dans le core, semble être un des mécanismes possibles et fréquents de la résistance non enzymatique des Pseudomonas aux β -lactamines (52)

+ Tolérance bactérienne

une bactérie est dite tolérante lorsque ayant conservé la même sensibilité (même CMI) vis à vis d'un antibiotique bactéricide.

Il existe une augmentation considérable de la CMB avec un rapport CMB / CMI supérieur à 32.

L'effet bactériostatique persiste alors que l'effet bactéricide de l'antibiotique disparaît

L'absence d'activation du système lytique normalement activé par l'antibiotique explique ce phénomène.

Ce phénomène est surtout marqué pour les β -lactamines vis à vis des Streptocoques.

+ Persistance bactérienne

On observe une persistance du germe in vivo en présence de l'antibiotique.

Ceci s'explique par une perte ou une diminution structurelle ou fonctionnelle d'un gène avec comme conséquence une modification du métabolisme bactérien.

Ce phénomène a été observé avec les β -lactamines mais également avec les autres antibiotiques.

V-2-2 Résistance aux Aminosides

V-2-2-1 Mécanismes d'action des Aminosides

Les aminosides agissent sur la synthèse protéique qu'ils inhibent au cours de la traduction en agissant au niveau de la sous-unité 30S des ribosomes; ils sont généralement bactéricides (109).

V-2-2-2 Mécanismes de résistance

Trois mécanismes sont impliqués dans la résistance aux aminosides chez les entérocoques :

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

V-2-2-2-1 Altération de la cible

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

V-2-2-2-2 Modification du transport de l'antibiotique

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

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

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

V-2-2-2-3 Détoxification enzymatique des ATB

La modification enzymatique des aminosides médiée par les plasmides constitue le mécanisme de résistance à ces ATB le plus fréquemment rencontré en clinique (118).

C'est ce troisième mécanisme d'origine plasmidique prédominant chez l'entérocoque qui est responsable de l'apparition de souches hautement résistantes aux aminosides (27,29,43,47,50,61,62,69,80,82,117). Ces enzymes, classées en trois catégories en fonction de la réaction qu'elles catalysent (nucléotidation, phosphorylation ou acétylation) sont nommées en fonction de leurs substrats.

Ainsi chez *E. faecalis*, l'enzyme ANT (6) (Aminoside nucléotidyltransférase) induit une résistance à la streptomycine; APH (3') (Aminoside phosphatransférase) se traduit par une résistance à la Kanamycine, à la nétilmicine et à l'amikacine ; l'ANT (4') induit quant à elle une résistance à la tobramicine alors que l'enzyme bifonctionnelle

APH (2'') -AAC (6') détoxifie la Kanamycine, l'amikacine, la nétilmécine, la tobramicine et la gentamicine **(43,50,69,80,82)**.

Ces trois classes d'enzyme sont de ce fait à la base des phénotypes de résistances aux aminosides des Streptocoques et Entérocoques.

Aussi le tableau III **(80)** donne les différents types d'enzymes modificatrices et leurs substrats alors que Bismuth **(16)** a résumé au tableau IV; les phénotypes de résistance des différentes espèces de Streptocoques et à sa suite BA.S (9) a commenté leur corrélation avec la résistance aux β -lactamines chez les *E. faecalis*.

Tableau III : Les enzymes modificatrices des aminosides

Enzymes	Types de substrats
O-Phosphotransferases 2'' 3'(5'')- 3''- 4- 6-	(APH) Kanamycine, gentamicine, tobramycine Kanamycine, néomycine Streptomycine Hygromycine Streptomycine
N-Acetyltransferases 1- 2'- 3- 6'-	(AAC) Apramycine, paromomycine Gentamicine, tobramycine Kanamycine, gentamicine, tobramycine Kanamycine, gentamicine, tobramycine
O-Adenyltransferases 2''- 3''- 4'- 6- 9-	(ANT) Gentamicine, tobramycine Streptomycine Kanamycine néomycine Streptomycine Spectinomycine

Tableau IV. Les phénotypes de résistance aux aminosides de différentes souches de streptocoques et d'entérocoques

Bactéries	S	T	K	G	SIS	AN	NET	Genotype S
<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i> <i>S. non groupe</i> <i>S. A,B,G,D</i>	R	S	S	S	S	S	S	APH (3') ANT (6') ANT (9)
<i>S. non groupe</i> <i>S. pneumoniae</i>	S	S	R	S	S	R	S	APH (3')
<i>E. faecalis</i> <i>var zymogènes</i>	S	R	R	R	R	R	R	APH (2'') AAC (6')
<i>E. faecium</i>	S	R	R	R	S	S	S	ANT (4')
<i>E. faecalis</i> <i>Var liquefasc</i>	R	R	R	R	R	R	R	ANT (3') + APH (3) APH (2') + AAC (6)

V-2.3 - Résistance bactérienne aux macrolides, lincosamines et streptogramines

Ces trois groupes d'antibiotiques de structures chimiques différentes sont apparentés par leur spectre d'activité, leur mécanisme d'action et par les phénomènes de résistance. A ces antibiotiques viennent s'ajouter d'autres dérivées semisynthétiques de l'érythromycine appartenant à la classe des azalides.

V.2.3.1 - Mécanisme d'action

Les macrolides inhibent les synthèses protéiques ARN dépendant du site P de la sous unité 50 S du ribosome (89). Il semble que ce soit les étapes de translocation et de transpeptidation au niveau du site P qui soient inhibées (44).

Les lincosamines se fixent également au niveau du site P; leur action serait plus précoce que celle des macrolides notamment l'inhibition de la fixation de l'amino-acyl-t-ARN au site accepteur ainsi que la formation de la liaison peptidique (44)

Les deux composés des streptogramines entraînent chacun isolément une bactériostase par blocage réversible de la synthèse protéique.

L'effet synergique obtenu par mélange des composés A et B entraîne une bactériocidie. Le facteur A dont le mécanisme est plus élucidé semble inhibé le peptidyl-transférase (44)

V.2.3.2 - Mécanismes de résistance

V.2.3.2.1 - Résistance intrinsèque

Cette résistance est liée à une imperméabilité naturelle de la membrane externe. Elle est surtout retrouvée chez les bactéries à Gram négatif. Les

Entérobactéries, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* résistent naturellement aux macrolides. Les entérocoques (sauf *Enterococcus.durans* et *Enterococcus.faecium* sont naturellement résistants aux lincosamines. Ces entérocoques sont aussi résistants au composant A des streptogramines (82).

V.2.3.2.2 - Résistance acquise

① Modification de la cible

Les souches résistantes produisent une méthylase responsable de la diméthylation d'une adénine dans l'ARN 23 S de la sous unité ribosomale 50 S. La résistance ainsi conférée est croisée entre macrolides, lincosamines et streptogramines B (MLS_B).

Ce phénotype de résistance peut être inductible ou constitutif notamment chez les staphylocoques. Il est médié par des gènes appelés ERM portées par des plasmides ou des transposons situés sur le chromosome (82).

Si la résistance est inductible il y a dissociation entre l'activité des macrolides en C 14 (erythromycine) et celle des autres, des lincosamines, streptogramines.

Si elle est constitutive, la souche est résistante à l'ensemble des macrolides, lincosamines et au seul facteur B des streptogramines. Le facteur A reste actif et la synergie entre les deux facteurs est conservée.

② Inactivation enzymatique

Ici la résistance n'est croisée que lorsque les différentes molécules sont chimiquement apparentées. Ce sont soit des estérases ou des phosphotransférases pour les macrolides chez les entérobactéries soit les nucléotidyltransférases pour les lincosamines soit enfin une acétyltransférase pour la streptogramine A et une hydrolase pour la streptogramine B (82).

③ Efflux actif

Ce mécanisme décrit chez les staphylocoques est médié par un gène plasmidique .

V.2.4 - Résistance aux tétracyclines (28).

Le principal mécanisme de résistance repose sur l'insuffisance de concentration intracellulaire en antibiotique. Le système actif de transport est en balance avec un système excréteur responsable de la résistance. Celle-ci est surtout liée à une excrétion excessive d'antibiotique à travers la membrane cytoplasmique, faisant intervenir la synthèse inductible ou constitutive du système excréteur. Ce système de pompe, régulé négativement, comporte deux gènes : celui de contrôle ou répresseur, et celui de structure ou protéine TET.

Parmi les autres mécanismes de résistance évoqués, l'un est en relation avec la protection des ribosomes (TET M). L'incidence de la résistance par imperméabilité observée chez les souches porine déficiente qui sont exclusivement des espèces à Gram négatif, est encore faible, mais la résistance est croisée avec d'autres antibiotiques comme les bêta-lactamines, le chloramphénicol et l'acide nalidixique.

V.2.5 - Résistance aux glycopeptides

V.2.5.1- Mécanisme d'action des glycopeptides

Ils agissent sur la paroi bactérienne en inhibant la synthèse du peptidoglycane au cours de la seconde phase de la synthèse qui a lieu au

niveau de la membrane (71,91); ils sont bactériostatiques vis à vis des entérocoques (55).

V.2.5.2 - Mécanismes de résistance aux glycopeptides

Actuellement trois phénotypes de résistance aux glycopeptides sont décrits. Cette résistance observée surtout chez *E. faecium* et apparue en 1987 s'explique par une modification de la structure du peptidoglycane.

- le phénotype VAN A d'origine plasmidique caractérise les souches d'entérocoques résistantes à haut niveau à la vancomycine et à la téicoplanine.
- le phénotype VAN B d'origine chromosomique définit les souches présentant un niveau de résistance variable à la vancomycine et restant sensibles à la téicoplanine.
- le phénotype VAN C est caractérisé par la résistance naturelle de bas niveau à la vancomycine non transférable et probablement chromosomique associée à une sensibilité conservée à la téicoplanine et observée chez *E. casseiflavus* et *E. gallinarum*.

Le mécanisme de la résistance est le même pour les types de résistance VAN A et VAN B qui sont inductibles. Les gènes nécessaires à l'expression de la résistance sont portés par les transposons Tn1546 (VAN A) et Tn1547 (VAN B). L'expression inductible est liée à la synthèse de deux protéines, partenaires dans un système régulateur à deux composants. Un des précurseurs essentiels de la paroi bactérienne est un dérivé pentapeptidique constituant un monomère de la paroi à laquelle il est branché au cours de son élongation et terminé par un dipeptide D-alanyl-D-alanine qui est le site de fixation des glycopeptides ; cette fixation empêche en conséquence le branchement du précurseur et donc

l'élongation de la paroi ; les souches résistantes synthétisent des précurseurs terminés par un depsipeptide D-alanyl-D-lactate et qui sont de faible affinité pour la vancomycine et la téicoplanine expliquant ainsi la résistance. Cette résistance est donc une résistance par modification de la cible (4, 8,28,32,33,37,55,66,67,75,77,81,93,95).

V.2.6 Résistance vis à vis des sulfamides et du triméthoprime (118)

Il s'agit : ♦ soit de mutations chromosomiques
 ♦ soit d'une résistance codée par des plasmides.

TABLEAU V : Mécanismes de résistance en fonction du déterminisme génétique (44).

	RESISTANCE CHROMOSOMIQUE	RESISTANCE PLASMIDIQUE
SULFAMIDES	Diminution de perméabilité Hyperproduction de PAB Hyperproduction de DHPS DHPS mutée résistante	DHPS additionnelle Diminution de perméabilité
TRIMETHOPRIME	Diminution de la perméabilité Auxotrophie en thymine Hyperproduction de DHFR DHFR mutée résistante	DHFR additionnelle (au moins 3 types différents)

V.2.7 Methicillinoresistance (ou oxacilline et dérivés) (118).

C'est en 1960 que les premières souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (S.A.R.M.) ont été observées en Angleterre. La particularité de ce type de résistance est liée à son expression "hétérogène". Ce qui veut dire que seule une fraction de la population est capable d'exprimer la résistance : en moyenne une bactérie sur 10^4 à 10^6 exprime la résistance. Certaines souches sont extrêmement hétérogènes, alors que pour d'autres, l'expression de la résistance s'exprime pour la quasi totalité de la population ces souches sont dites "homogènes". Différents facteurs sont susceptibles de modifier l'expression de cette résistance (Tableau VI).

Lorsque les conditions idéales de culture sont réunies, le nombre de cellules exprimant la résistance peut être multiplié par 10^3 ou 10^4

Tableau VI : Facteurs pouvant modifier l'expression de la résistance

FACTEUR	CONDITION OPTIMALE DE LA RESISTANCE
Température	30°C
Osmolarité du milieu	2% à 5% de NaCl
Lumière	obscurité
pH	7,4
Durée d'incubation	48H
Inoculum	lourd ($\geq 10^7$ UFC/ ml)

Chez les S.A.R.M, la résistance à la méthicilline est due à la synthèse d'une nouvelle PLP appelée PLP 2a pour laquelle les b-lactamines n'auraient qu'une faible affinité. La synthèse de la PLP 2a serait inductible, expliquant ainsi le caractère plus ou moins hétérogène de la résistance en fonction de la souche, de l'antibiotique étudié et des différents facteurs préalablement cités.

La résistance à la méthicilline est croisée avec celle de toutes les autres b-lactamines in vitro mais aussi in vivo.

Les S.A.R.M. sont aussi producteurs d'une pénicillinase sauf quelques rares souches. Ils sont toujours résistants à la streptomycine, aux tétracyclines, aux sulfamides et généralement à l'érythromycine.



2ème Partie :
TRAVAIL PERSONNEL

I- CADRE DE L'ETUDE

Les études réalisées de 1990 – 2000 sur le comportement des souches responsables d'infections nosocomiales vis à vis des antibiotiques, ont été réalisées au laboratoire de Bactériologie – Virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec (HALD) de Dakar.

II- MATERIEL ET METHODES

II-1 Matériel

II-1-1 Origines des souches

Les souches qui ont été étudiées proviennent essentiellement de 3 types de prélèvements:

- prélèvements au niveau des malades :

il s'agissait essentiellement de malades de la réanimation, de la chirurgie et de la maternité de l'HALD.

Plusieurs types de produits pathologiques ont été étudiés:

- Urines
- Pus
- Sang
- Prélèvements des germes de l'atmosphère
- Manuportage et les prélèvements au niveau des matériels d'anesthésie, les stéthoscopes, les cathéters et les perfuseurs, prélèvements constitués par les solutions d'antiseptiques.

II-1-2 Culture de germes

Nous avons utilisé les milieux suivants:

BT : Bouillon Thioglycolate pour la suivie de tous les germes.

BS : Bouillon Streptosel pour les streptocoques.

GSO: Gélose du sang ordinaire pour les streptocoques

SS : Pour les Entérobactéries.

MH : Mueller Hinton pour la suivie de tous les germes et pour vérifier la pureté des souches.

II-1-3 Résistance enzymatique

- Détermination d'une β -lactamase
 - Disque de nitrocéfine
 - Inoculum provenant de la souche pure
- Détermination d'une β -lactamase à spectre élargi
 - Disque d'amoxicilline-acide clavulanique
 - Disque de ceftazidime
 - Disque de céfotaxime
 - Disque d'aztréonam
- Détermination de la Méthicillino-résistance
 - Oxacilline

II- 2 Méthodes

II-2-1 Isolement des germes chez les malades

Les prélèvements regroupent essentiellement :

- Les prélèvements d'urine
- Les prélèvements de pus
- Les prélèvements de sang : hémoculture

le rôle du laboratoire est primordial dans la lutte contre l'infection nosomiale.

En effet, l'identification des différentes espèces bactériennes responsables de ces infections a lieu au niveau du laboratoire de

Bactériologie et le diagnostic biologique permet de mieux connaître les germes afin de prévoir une antibiothérapie efficace.

II-2-1-1 Les prélèvements

En règle générale, les prélèvements doivent être effectués avant toute antibiothérapie et dans des conditions strictes d'asepsie.

Le détail des techniques va varier en fonction du produit pathologique et il faut envoyer le prélèvement au laboratoire avec des renseignements succincts sur le malade et son état clinique.

Il est toujours important d'insister sur la qualité du prélèvement car elle va conditionner toute la suite de l'examen : avec de bons prélèvements, on obtient de bons résultats.

II-2-1-2 Traitement des produits pathologiques

II-2-1-2-1 Définition des produits pathologiques

ce sont des produits biologiques où se sont multipliés les micro-organismes responsables de l'infection .

Classiquement, on a deux types de produits pathologique:.

- Les produits pathologiques monomicrobiens .

Ce sont des produits pathologiques qui sont originaires d'une cavité naturelle qui est stérile à l'état normal car n'ayant aucun contact avec l'extérieur.

C'est un produit que l'on prélève à l'aide d'une aiguille ou tout autre matériel de ponction .

Exemple

- LCR
- sang

- Liquides pleuraux
- Liquides péricardiques
- liquide d'ascite

En règle générale, on n'isole qu'une seule bactérie de ces produits responsables de l'infection.

- Les produits pathologiques polymicrobiens.

Ils sont issus de cavités naturelles qui sont normalement septiques donc ce sont des produits qui sont riches en germes ou en produits contaminés. Ces contaminations surviennent lors de l'émission dans le milieu extérieur par des voies naturelles septiques.

Exemples

- Selles
- Sécrétions buccales
- Sécrétions vaginales
- Sécrétions rhinopharyngées
- Pus d'abcès fistulisés
- Les urines

II-2-1-2-2 Les différents produits pathologiques

*** Les urines**

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) permet de faire le diagnostic d'une infection urinaire.

Critères cyto bactériologiques

Tableau V II: Données des critères cyto bactériologiques de l'infection urinaire.

Leucocytes = 0 Bactéries < 10 ⁵ /ml	Pas d'infection
Leucocytes = 0 Bactéries ≥ 10 ⁵ /ml	Contamination Refaire l'ECBU
Leucocytes ≥ 10 ⁴ /ml Bactéries ≥ 10 ⁵ /ml	Infection → Infection urinaire traitée → Tuberculose rénale (cellules = lymphocytes)
Leucocytes ≥ 10 ⁴ /ml Bactéries < 10 ⁵ /ml	→ "Bactéries diluées" + Infection génitale + Diurèse abondante → "Bactéries non multipliées" + pH urinaire bas + Recueil > à 4 heures → Bactéries à multiplication lente

Différentes étapes de l'ECBU

- Prélèvements

Ils se font généralement au laboratoire .

On recueille les premières urines du matin, après nettoyage du méat urinaire avec une solution antiseptique. L'urine prélevée doit être traitée dans les 30 minutes qui suivent le prélèvement .

On procédera ensuite à une homogénéisation par vortex.

- Examen macroscopique
- Examen microscopique

Avec ses 2 volets:

- Volet cytologique
- Volet bactériologique
- Uroculture

Elle est à la fois qualitative et quantitative. Elle permet de dénombrer les bactéries et d'isoler la ou les bactéries en cause, en vue de l'identification et de la réalisation de l'antibiogramme.

➤ Dénombrement des germes urinaires (DGU):
on utilise le plus souvent la méthode de la lame immergée.

➤ La bactériologie qualitative permet l'identification de la ou des bactéries en cause .

Ensemencement sur les différents milieux : gélose Mueller Hinton, gélose EMB (Eosine Bleu de Méthylène), gélose au sang ordinaire et de chapman.

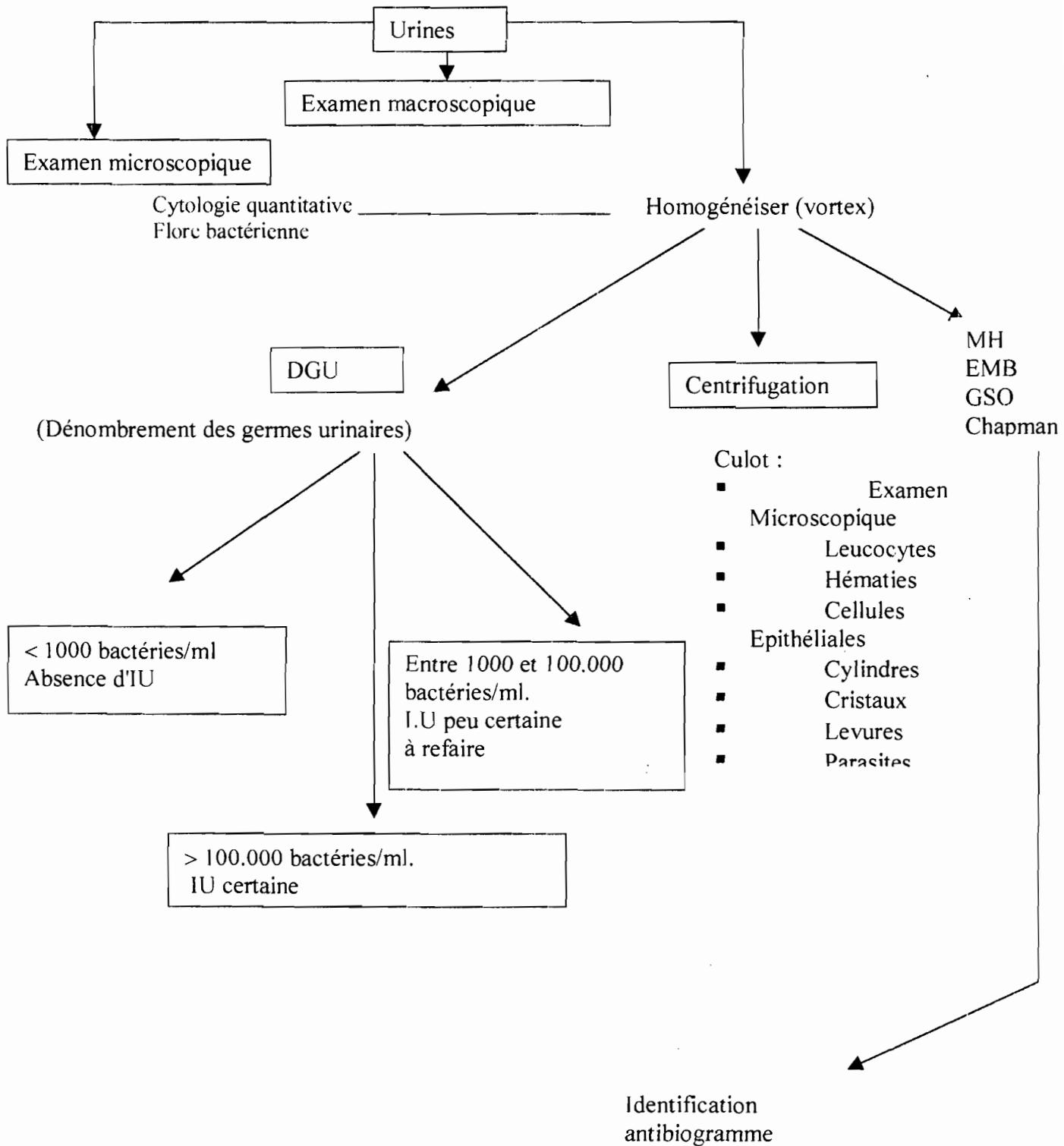


Figure 1: examen cyto bactériologique des urines

* Les pus

- Définition :

Le pus est un prélèvement de produit pathologique hétérogène provenant d'infection de localisation différente et mettant en cause de nombreux agents infectieux. Ces infections peuvent être classées en 3 rubriques:

- Pus provenant d'infections superficielles.

Exemple : Escarres, brûlures, plaies traumatiques et chirurgicales.

- Pus provenant d'infections profondes:

Exemple : abcès sous cutanés ou viscéraux, adénites.

- Pus provenant des infections des séreuses (infections de la plèvre, du péritoine, articulation, péricarde).

- Examen cyto bactériologique du pus:

Le prélèvement a été fait le plus souvent par écouvillonnage en cas de pus provenant des infections superficielles, ou à l'aide de seringue pour le pus des infections profondes .

On avait fait:

- Un examen macroscopique.
- Un examen microscopique après étalement du pus sur une lame et coloration au Gram et dans certains cas, au Ziehl Nielsen .
- Culture
- Identification
- Antibiogramme

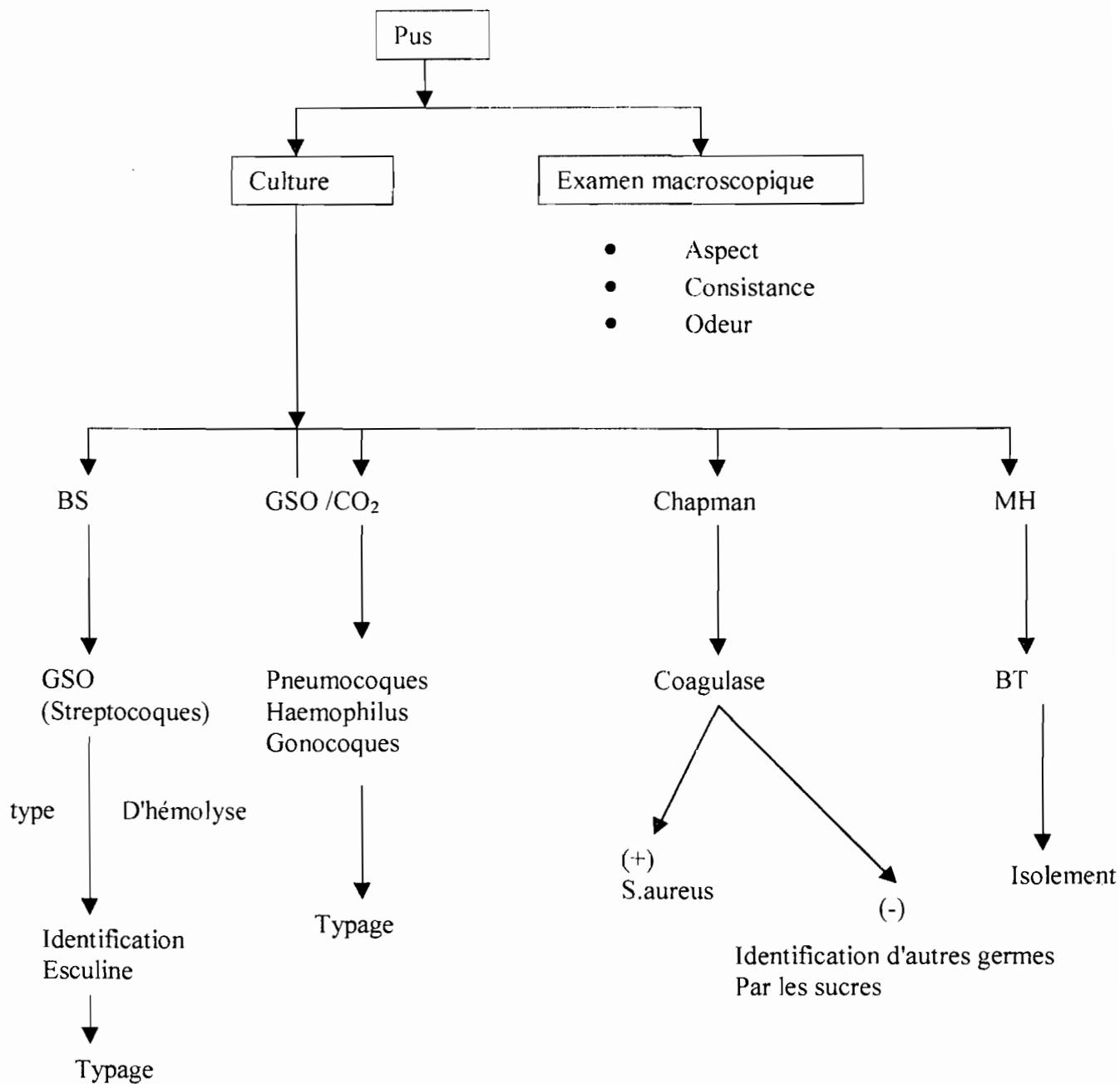


Figure 2: Etude bactériologique des prélèvements de pus

* Les Hémocultures

Le prélèvement se fait dans des conditions très rigoureuses d'asepsie par ponction veineuse au niveau du pli du coude ou d'une veine superficielle pour l'adulte .

Chez l'enfant, il a lieu au niveau de la fontanelle.

On utilise 2 types de milieux de culture :

- Un milieu mono ou diphasique type cœur-cervelle.
- Un bouillon shaedler contenant de l'hémine et de la vitamine K₃.

Les ballons doivent être gardés très rapidement à l'étude à 37°C.

Les différentes étapes de l'hémoculture reposent essentiellement sur l'examen macroscopique quotidien des ballons de culture .

Une culture positive se traduit par un aspect trouble du liquide avec souvent une hémolyse du culot hématique qui s'est déposé au fond du tube.

Ce trouble peut être tout à fait évocateur. En particulier on peut observer un trouble avec une coloration:

- Brun verdâtre : *Pseudomonas aeruginosa*
- Un voile sec : souillure par un bacillus
- De nombreuses bulles de gaz : bactéries anaérobies surtout (*Clostridium perfringens*).

Ces ballons doivent être observés tous les jours pendant 10 jours. Si au bout de ces 10 jours le ballon devient trouble, on effectue:

- Un examen à l'état frais.
- Un examen après coloration de Gram.

En fonction des résultats de ces examens, on ensemence les milieux appropriés.

Si jusqu'au 10^{ème} jour, le ballon n'est pas troublé, on le retire de l'étuve, pour faire un examen microscopique (à l'état frais et après coloration de Gram) et une culture sur gélose de Mueller Hinton.

La culture est négative si l'examen direct et la culture ne révèlent pas la présence de germes.

II-2-2 Isolement des germes de l'atmosphère (96)

II-2-2-1 Prélèvements

On a utilisé des boîtes de pétri contenant différents milieux : GSC, GSO, MH, Chapman, DCLS ou SS.

Ces boîtes étaient placées au niveau de plusieurs endroits suspects :

- Sous les tables d'opération lorsqu'il s'agit du bloc (chirurgie, maternité) de l'HALD.
- Sous les lits.

Le protocole était tel qu'on avait au moins deux boîtes contenant le même milieu.

Ces boîtes étaient maintenues ouvertes pendant une heure de temps avant d'être amenées au laboratoire pour une incubation à 37°C pendant 24 heures.

II-2-2-2 Identification

Au bout des 24 heures d'incubation, les différentes colonies étaient repérées et on avait procédé à un examen microscopique ou Gram. On peut obtenir plusieurs cas :

- Cocci Gram positif en amas

On conclut à la présence de Staphylocoques. Un ensemencement sur milieu chapman permettait une identification des différentes espèces.

- Cocci Gram positif en chaînettes

Cela traduit la présence de Streptocoques. L'identification des espèces était faite par ensemencement sur milieu gélosé au sang ordinaire (GSO).

- Bacilles Gram négatif

On avait effectué une minigalerie

II-2-3 Isolement des germes au niveau du matériel médical et des mains du personnel

Le prélèvement chez le personnel est effectué lors des programmes de contrôle.

Ce prélèvement se fera au niveau des mains du personnel soignant et au niveau des gants.

Pour le matériel : il s'agira du matériel d'anesthésie, des stéthoscopes, des cathéters et des perfuseurs

On utilisait un écouvillon stérile que l'on frottait au niveau du matériel médical (ciseaux, plateaux, pinces---) et des mains du personnel.

L'écouvillon était ensuite acheminé au laboratoire et on effectuait la culture en plongeant l'écouvillon successivement dans les milieux de culture suivants :

- bouillon au théoglycolate de sodium pour la détermination du type respiratoire et la suivie de tous les germes .
- bouillon streptosel (BS) pour la culture des streptocoques.
- milieu gélosé de Chapman pour les staphylocoques.

Un examen microscopique (état frais et Gram) nous guidait vers une identification plus poussée des différents germes.

II-2-4 Identification (96)

Pour l'identification des espèces bactériennes, nous avons utilisé les méthodes d'identification en microplaques.

* Pour les streptocoques (entérocoques)

La galerie d'identification est composée de 12 substrats pour la mise en évidence d'enzymes et de la fermentation des sucres.

Une suspension dense de culture pure de bactéries, prélevée sur une gélose, est inoculée avec les milieux d'étude.

Après le temps d'incubation, la révélation se fera spontanément ou par adjonction de réactifs.

Les différents tests sont :

- La production d'acétone
- L'hydrolyse de l'esculine
- L'hydrolyse de l'arginine
- La croissance sur milieu hostile.
- L'acidification de divers sucres tels que :
 - Le glucose
 - Le lactose
 - L'arabinose
 - Le mannitol
 - Le tréhalose
 - Le sorbitol
 - Le sorbose
 - Le raffinose
 - L'inuline
 - Le ribose

Tableau VIII : Lecture et Interprétation des streptocoques

Test	Substrat	Réaction recherchée	Révélateur	Réaction			
				Positive		Négative	
VP	Glucose	Production acétoïne	1 goutte de VP1 1 goutte de VP2 attendre 10min				
ESC	Esculine	β -glucosidase		4H noir ou gris	24H noir	4H incolore ou jaune pâle	24H incolore ou jaune pâle ou gris clair
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase		Violet		Jaune	
BHS	Croissance sur milieu hostile			Jaune		Violet	
ARAB	Arabinose	Acidification		Jaune		Orange	
MANN	Mannitol						
SOR	Sorbitol						
TRE	Tréhalose						
RAF	Rafinose						
SORBO	Sorbose						
INU	Inuline						
LAC	Lactose						
RIB	Ribose						
AMI	amidon						

* **Pour les entérobactéries:**

La plaque est constituée de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés destinés à la mise en évidence d'activités enzymatiques et de fermentation (oxydation) sucrées.

- **Préparation de la plaque**

- Répartir dans chaque microtube, 50µl de milieu.
- Déshydrater les milieux à l'étuve (42°C) en présence de dessiccateur (gomme arabique) pendant 18 heures.
- Recouvrir la plaque du fil adhésif avant de mettre le couvercle.
- Mettre sous emballage avec un déshydratant.
- Conserver à 4°C ou 20°C.

- **Ensemencement**

Répartir 100ml d'une suspension d'opacité correspondant au point 0,5 de l'échelle Mac Farland.

Recouvrir d'huile de paraffine les microtubes où sont recherchés les caractères biochimiques suivant :

- La fermentation des glucides
- La recherche de l'uréase
- La production de H₂S
- La recherche des décarboxylases

- **Incubation**

24 heures à 37°C (étuve) sur un plateau recouvert de papier buvard imbibé d'eau.

- **Lecture**

Cette méthode donne lieu à des réactions colorées, dont la lecture se fait à l'œil nu, éventuellement après addition d'un ou de plusieurs réactifs (tableau X).

Tableau IX : composition de la galerie d'identification des Entérobactéries

Test	Substrat
VP	Glucose
PDA	Phénylalanine
ONPG	O. Nitrophényl β -D-galactopyranoside
MAL	Malonate
CS	Citrate de Sodium
RM	Glucose
IND	Tryptophane
UREE	Urée
SH ₂	Thiosulfate de Sodium
NIT	Nitrate de potassium
ESC	Esculine
ADH	Arginine
ODC	Ornithine
LDC	Lysine
GLU	Glucose
MANN	Manitol
SOR	Sorbitol
SAC	Saccharose
INO	Inositol
LAC	Lactose

Tableau X : Identification des Entérobactéries

Test	Réactifs à ajouter	Interprétation des résultats	
		Positif	Négatif
GLU MAN LAC INO SAC SOR		Vert à jaune	Bleu
NIT	1 goutte d'acide sulfanilique + 1 goutte d'alphanaptylamine	Rouge	Incolore
SH ₂		Précipité noir	Incolore
Urée		Rouge violacé	Jaune
IND		Anneau rouge	Anneau jaune
VP	1 goutte d'acide de KOH puis 1 goutte d'alphanaptol attendre 10 mn avant la lecture	Rouge	Incolore
RM	1 goutte de Rouge de méthyl	Rouge	Jaune-orange
CS		Bleu	Vert
MAL		Bleu	Jaune-vert
PDA	1 goutte de perchlorure de Fer	Vert	Jaune
ONPG		Jaune	Incolore
ODC		Violet	Jaune
ADH		Violet	Jaune
LDC		Violet	Jaune

* **Pour les staphylocoques**

La plaque est constituée de microtubes contenant des substrats destinés à la mise en évidence d'activités enzymatiques et de fermentation sucrées

Composition de la galerie d'identification :

Urée tryptophane

Milieu de Falkow : c'est le milieu pour la recherche des décarboxylases.

- Test à l'ONPG : il concourt à la caractérisation de la β -galactosidase

Milieu de Clark et Lubs : le but de son utilisation est la mise en évidence de l'acétoïne produite par certains staphylocoques.

- MEVAC : milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides :

Glucose

Tréhalose

Mannitol

Xylose

Saccharose

Glycérol

Mannose

Lactose

Raffine

- Bouillon Muller-Hinton pour le test à la novobiocine à 3,2 μ g/ml

- Bouillon nitrate

- Milieux complémentaires

C'est la gélose à l'ADN et le plasma citraté qui servent à la recherche de la production de la Dnase et de la coagulase.

- Préparation de la microplaque

75 μ l de chaque milieu sont déposés dans le puits correspondant au niveau de la microplaque de façon extemporanée.

- Préparation de l'inoculum

Les souches conservées étaient régénérées dans un bouillon trypticase 50 (soja) à 37°C pendant 4 heures avant d'être repiquées sur une gélose trypticase soja enrichie par 5% de sang de mouton qui permettait

d'obtenir des colonies de taille plus importante, après 24 heures à 37°C à l'étuve.

A partir de colonies bien isolées et bien développées, la suspension bactérienne était préparée en les délayant dans de l'eau physiologique dont le pH aura été ajusté à 7.

La turbidité de la suspension était ensuite ajustée à l'échelle 2 de l'étalon standard de Mac Farland au sulfate de barium.

La suspension homogénéisée par Vortexage était alors prête à être utilisée.

- Ensemencement et Incubation
- 75 µl de la suspension bactérienne préparée, sont déposés dans chaque puits de la microplaque. La plaque était ensuite soumise à une légère agitation afin d'homogénéiser les milieux.

Les puits contenant l'urée et les décarboxylases étaient recouverts d'huile de paraffine afin de maintenir l'anaérobiose nécessaire aux réactions.

On déposait dans chaque puits de la microplaque préalablement stérilée au four à micro-ondes, à l'aide d'une micropipette, 75µl de chaque milieu selon la disposition suivante.

Tableau XI : Disposition de la microplaque pour l'identification des staphylocoques.

Glucose	Tréhalose	Mannitol	Xylose	Saccharose
Glycérol	Mannose	Lactose	Raffinose	
Urée	Arginine dihydrolase	Ornithine Décarboxylase	Témoin des décarboxylases	Voges Proskauer
Ortho nitro Phenyl β-D galactopyranose	Novobiocine	Nitrate	-	-
-	-	-	-	-

- Lecture:

Elle reposait sur le changement de coloration initiale des différents milieux.

Pour la plupart des milieux, la lecture se faisait directement sans nécessité de l'utilisation de réactifs.

Mais pour la révélation, par contre, il fallait ajouter respectivement dans les puits contenant le VP et le nitrate, les réactifs suivants :

- Une goutte de potasse à 40% puis une goutte d'alphanaftol à 6%.
- Une goutte d'acide sulfanilique à 0,8% puis une goutte d'alphanaptylamine.

La lecture du nitrate doit se faire dans l'immédiat alors que celle du VP nécessite une réincubation de 10 mn à 37°C à l'étuve.

Tableau XII : Lecture de la microméthode des staphylocoques

Substrats	Milieux d'origine	Résultats	
		Positif	Négatif
Glucose Tréhalose Mannitol Xylose Saccharose Glycérol Mannose Lactose Raffinose Témoin	Rouge	Jaune	Rouge
Urée	Orangée	Violet	Orangée
ODC	Orangée	Violet	Jaune
ADH	Orangée	Violet	Jaune
TDEC	Orangée	Violet	Jaune
VP	Doré	Rouge framboise	Doré
ONPG	Incolore	Jaune citron	Incolore
Novobiocine	Rouge	Jaune	Rouge
Nitrate	Doré	Rouge framboise	Doré

II-2-5 Sensibilité aux antibiotiques

II-2-5-1 antibiogramme

La méthode utilisée était la méthode de diffusion en milieu gélosé.

La souche isolée était mise en suspension (Mar Farland 0,5) et ensuite mise en culture pendant 4 à 6 heures à 37°C.

On effectuait ensuite une dilution en fonction de la souche:

- Entérobactéries et Pseudomonas = 1/1000.
- Staphylocoques et Entérocoques = 1/100.

Avec cette dilution, on imbibait le milieu gélosé de Mueller Hinton (MH) préalablement préparé dans une boîte de pétri.

Les disques d'antibiotiques y étaient ensuite déposés et le tout était incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures.

La lecture s'effectuait par mesure du diamètre d'inhibition de chaque disque.

Et ce diamètre était comparé avec celui figurant sur les abaques fournies par le fabricant de disque.

II -2-5-2 Détermination de la CMI(concentration minimale inhibitrice) (46)

II-2-5-2-1 Définition de la CMI

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique inhibant en 18 à 24 heures, la multiplication des bactéries.

Cette valeur permet de classer une souche bactérienne dans les catégories :

- Sensible (S) ; lorsque la CMI déterminée in vitro est inférieure à la concentration sanguine obtenue après administration d'une dose utilisable en thérapeutique.
- Résistance (R) lorsque la CMI de l'antibiotique est trop élevée pour être atteinte in vitro sans utiliser des doses toxiques.
- Intermédiaire (I); lorsque , à cause de la valeur élevée de la CMI, les micro organismes ne pourront être atteints avec une antibiothérapie standard, mais pourront l'être par un traitement administré par voie générale à forte dose (possible seulement avec les produits pas ou peu toxiques) ou par voie locale, ou encore si l'antibiotique se concentre là où siège l'infection.

La détermination de la CMI d'un antibiotique sur une souche bactérienne peut être utilisée en recourant à une méthode par dilution ou par diffusion de l'antibiotique.

2 Méthode par dilution

Elle peut être pratiquée en milieu liquide

1-5-2-2-1 En milieu liquide

Prendre une série de tubes à hémolyse stériles (ou dans lesquels on répartit une même quantité de milieu inoculé avec une culture de bactéries en suspension, diluée de façon à obtenir une concentration de 10^8 bactérie/ml (inoculum microbien) . On ajoute ensuite dans chaque tube à dilution un volume de témoin, sous un même volume, des tubes de l'antibiotique étudié, réalisant une gamme de dilution géométrique de raison 2.

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, on observe macroscopiquement pour déterminer la CMI. Dans un certain nombre de tubes, la culture s'est développée, et un trouble nettement visible en est la traduction.

A partir d'une certaine concentration, il n'y a plus de cultures visibles . Le premier tube dans lequel il n'y a plus de culture indique la CMI encore appelée taux inhibiteur ou taux de sensibilité de la souche étudiée.

Bibliothèque Centrale Université Cheikh Anta Diop

NOM DU DEMANDEUR Chahibou Salou
 COTE THM 43118 ou 43111
THM 42186 ou 42187

II-2-5-2-2-2 En milieu solide

Elle consiste à incorporer l'antibiotique dans la gélose coulée en boîte de pétrie, réalisant comme précédemment une gamme de concentrations croissantes:

La souche estensemencée en strie ou en spot à la surface de la gélose. Ces deux techniques de dilution sont très laborieuses et ne sont pas habituellement appliquées à la détermination, en routine de l'activité d'un grand nombre d'antibiotiques, sur une souche bactérienne.

La méthode par diffusion permet de palier à cet inconvénient.

II-2-5-2-3 Méthode par diffusion (Antibiogramme = Méthodes des disques)

Des disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie d'antibiotiques, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablementensemencé avec une suspension de bactéries (inoculum 10^6 bactéries/ml) en phase de croissance exponentielle. A partir du disque, l'antibiotique diffuse dans la gélose; sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration).

Après incubation du milieu de culture (18 heures à 37°C), on constate que chaque disque est entourée d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne : la multiplication des micro-organismes s'arrête là où existe, dans la gélose, une concentration d'antibiotique supérieure ou égale à la CMI. Pour chaque antibiotique, on mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne et on en déduit la valeur (approchée) de la CMI de l'agent antimicrobien vis à vis de la souche étudiée.

En effet, pour un antibiotique donné, une relation existe entre la valeur du diamètre d'inhibition de croissance et celle de la CMI; celle-ci étant établie par des études comparatives préalables

Portant sur un grand nombre de souches appartenant à des bactéries différentes.

II-5-2-4 Microméthodes d'étude "in vitro" de la sensibilité des germes aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques a été la première des séquences de l'analyse microbiologique qui a pleinement bénéficié de l'automatisation.

Les appareils utilisés fonctionnent schématiquement selon deux principes :

- Ils miment les tests conventionnels d'étude de la sensibilité (antibiogramme par diffusion ou détermination de la CMI en milieu liquide).
- Ils comparent la croissance d'un témoin à celle observée en présence d'une ou de plusieurs concentrations d'antibiotiques à l'aide d'indices propres à chaque machine.

La détection de la croissance peut se faire de manière :

- Directe par turbidimétrie ou par néphélométrie. La plupart des instructions utilisés ne détectent un trouble que si la densité bactérienne atteint 10^7 bactéries/ml.
- Indirecte : ces méthodes permettant d'estimer la biomasse en mesurant certaines activités enzymatiques bactériennes à l'aide de substrats chromogènes ou fluorogènes incorporés au milieu.

II-5-2-5 Le E-test (Epsillometer-test)

C'est une technique de détermination de la CMI fondée sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel prédéfini de l'antibiotique à tester, couvrant une zone de 15 dilutions allant de 0,016 à 256mg/l ou de 0,002 à 32mg/l en fonction des molécules.

Il a été standardisé conformément aux normes du comité national des laboratoires cliniques (NCCLS).

La E-test associe les caractéristiques des méthodes de diffusion et de dilution en milieu solide.

Les bandelettes sont des supports inertes, hydrophobes de 5mm de large et de 50 mm de long.

Elles sont appliquées sur la surface d'une gélose préalablement ensemencée avec la souche à étudier.

Après incubation, l'inhibition de la croissance bactérienne se traduit par la présence d'une ellipse dont les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI.

Une échelle de lecture imprimée à la face supérieure de la bandelette permet une interprétation rapide (lecture directe de la valeur de la CMI).

II-2-5-3 Mise en évidence de β -lactamases à spectre élargi ou étendu

La recherche d'une BSE doit être effectuée systématiquement dès que l'on soupçonne son existence, à savoir pour une entérobactérie qui est susceptible d'en héberger, lorsqu'on observe à l'antibiogramme des sensibilités diminuées pour les céphalosporines hospitalières telles que la Céfotaxime, la Céfotaxidime, l'Aztréonam.

Cette résistance s'effectue par la mise en évidence d'une synergie entre la β -lactamine testée et l'acide clavulanique. Pour cela, il faut placer au centre d'une gélose ensemencée avec la souche testée, un disque d'amoxicilline-acide clavulanique et à 30mm de ce disque et tout autour, les disques de céfotaxime, de Cef tazidime et d'Aztréonam.

Si la souche produit une BSE, il y a une augmentation très nette (supérieure ou égale à 4mm) du rayon d'inhibition autour de la β -lactamine et en regard du disque contenant l'acide clavulanique. Ceci est classiquement décrit comme une image en "bouchon de champagne".

II-2-5-4 Recherche de la Méthicillino-résistance

*** Principe**

Staphylococcus aureus est résistant aux pénicillines G et A par la production de pénicillinase et est généralement sensible aux pénicillines M (Méthicilline, Oxacilline) et aux Céphalosporines. Cependant certaines souches présentent une résistance intrinsèque à ces antibiotiques. Pour détecter cette dernière, il est conseillé de tester la résistance à l'Oxacilline qui est plus stable que la méthicilline.

*** Mode opératoire:**

- Technique de la diffusion sur gélose

Pour favoriser l'expression de la méthicillino-résistance, un disque d'Oxacilline a été placé sur une boîte de gélose MH.

Dans ce cas une préparation d'inoculum faite à partir de la culture et d'eau physiologique a été coulée en nappe et avant dépôt du disque d'Oxacilline.

L'incubation a été faite à 30°C pendant 24 heures. L'expression de la résistance hétérogène est matérialisée par la présence de colonies plus ou moins nombreuses à l'intérieur du cercle d'inhibition.

En pratique sur l'antibiogramme, il n'est utile de tester qu'un seul disque : l'oxacilline. la résistance hétérogène s'exprime mal avec les disques de céphalosporines. Il est donc inutile de les tester.

- Technique de la dilution en gélose (Screening)

En cas de doute sur la mise en évidence de la résistance intrinsèque par l'antibiogramme, il est intéressant d'employer la technique de dilution en gélose.

Cette technique consistant à préparer un inoculum dense (de turbidité équivalente à 0,5 Mac Farland) dans l'eau physiologique à partir d'une culture de 24 heures .

Un ensemencement par spot a été effectué sur la gélose MH contenant de l'oxacilline. Après une incubation à 30°C pendant 24 heures une souche présentant une résistance hétérogène pousse au niveau du point d'inoculation.

*** Interprétation des résultats**

- *S. aureus*

La pénicilline répond pour les aminosides, les carboxypenicillines et les acylureidopenicillines.

L'oxacilline répond pour les 4 β -lactamines.

Les phénotypes impossible sont :

Méthi R, Peni S : il ne s'agit pas d'une souche de *S. aureus*.

Métri R céfalotine sensible sachant que pour *S. aureus*, la résistance à la méthicilline est croisée à celle des β -lactamines.

- Autres Staphylocoques :

Plusieurs aspects peuvent être observés :

- Métri R Céfaloine R = se reporter au cas de *S. aureus*.
- Métri R Céfaloine S = le phénotype est possible , mais la sensibilité aux Céphalosporines doit être confirmée par la détermination des CMI pour toutes les souches isolées d'infections sévères.

- Autres phénotypes:

Certains Staphylocoques ont un bas niveau de résistance (diamètre 12-19mm) à l'oxacilline. Ils se portent comme pleinement sensibles à la Céfaloine et parfois à la pénicilline G.

II-3 Analyse des résultats

Principe Whonet V

L'analyse des résultats a été effectuée par le logiciel Whonet V. Le Whonet est une séries de programmes informatiques qui facilitent la gestion des résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques de germes bactériens. Des programmes d'analyse utilisant ces données aident à la meilleure compréhension de l'épidémiologie des résistances aux antibiotiques et le développement de pratiques de prescriptions rationnelles et de procédures de contrôle des infections.

Ces données pourront être employées à un niveau local et pourront aider les laboratoires dans la sélection des antibiotiques en reconnaissant et en soulevant des problèmes de résistance au plan local et en identifiant des problèmes de contrôle de qualité.

Le but du programme Whonet est l'établissement de réseaux nationaux et internationaux de surveillance continue de la résistance sur une échelle assez large.

II-4 Interprétation

Les souches sont interprétées en catégories :

- Sensibles : plus de 90% des souches de l'espèce sont sensibles .
- Moyennement sensibles : l'antibiotique est moyennement actif in vitro. Des résultats cliniques satisfaisant peuvent être observés lorsque les concentrations de l'antibiotique au site de l'infection sont supérieures à la CMI.
- Résistantes : au moins 50% des souches de l'espèce sont résistantes.

Cette interprétation est faite en tenant compte des valeurs critiques des CMI des antibiotiques.

Des calculs de CMI_{50} et CMI_{90} sont faits.

Le calcul de la CMI_{50} correspond à la détermination de la médiane par la méthode d'interprétation linéaire.

* Soit A, la moitié des souches étudiées.

On détermine B et C qui sont les effectifs cumulés immédiatement inférieur et supérieur à A des souches inhibées : $B < A < C$

D'après le tableau des effectifs cumulés, on détermine : $Y < X < Z$ qui sont celles correspondantes à $B < A < C$

Ensuite on applique la formule qui détermine $X = CMI_{50}$.

$$X = \frac{(A - B)}{(C - B)} (Z - Y) + Y$$

La CMI₉₀ est la concentration minimale d'antibiotiques inhibant 90% des souches étudiées.

Sa détermination se fait en suivant le même raisonnement que pour le calcul de la CMI₅₀.

III / Résultats et commentaires

Au cours de notre étude, on s'est surtout intéressé sur les souches les plus indicatrices d'infections nosocomiales à savoir :

- Les staphylocoques (*Staphylococcus aureus*) et les Entérocoques qui des cocci à Gram positif.
- Les *klebsielles*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* qui sont des bacilles à Gram négatif.

III-1 Résultats globaux

III-1-1 Phénotypes de résistance et profil de sensibilité des cocci à Gram positif

III-1-1-1 Les staphylocoques

Durant les dix dernières années, la sensibilité de plusieurs souches de staphylocoques, a été testée sur un certain nombre d'antibiotiques.

Entre 1990 et 1998, 118 souches de staphylocoques ont été testés et parmi ces 118 souches 95 sont productrices de Béta-lactamases et 23 sont non productrices.

Les résultats obtenus étaient les suivants :

Tableau XIII : Activités des antibiotiques testés à l'égard des principaux phénotypes de résistance des staphylocoques

ATB Souches	Béta-lactamines			Aminosides	MLS	Quinolones	Sulfa- trimétho	Acide fusidique
	Peni G	Oxa	Amx-Ac clavula					
Béta-lactamases négatives n=23	R	S	S	S	S	S	MS	S
Béta-lactamases positives n=95	R	S	S	S	S	S	MS	S
Méthi-R/béta- lactamases positives	R	R	R	MS	MS	S	R	MS
Méthi-R/béta- lactamases négatives	R	R	R	S	S	S	S	S
Méthi-R/béta- lactamases positives	R	S	S	S	S	S	MS	S
Méthi-R/béta- lactamases négatives	R	S	S	S	S	S	MS	S

III-1-1-1-1 Les souches Béta-lactamases négatives

Sur les 118 souches testées , les 23 ne sont pas productrices de Béta-lactamases.

◆ Sensibilité aux Béta-lactamines

Ces souches sont très sensibles à l'oxacilline et à l'association amoxicilline-acide clavulanique .

Par contre, on note une grande résistance à la Pénicilline G (92% des souches)

◆ Sensibilité aux autres antibiotiques

La gentamicine, l'érythromycine et la ciprofloxacine conservent une bonne activité sur les souches de staphylocoques, inhibant respectivement 92%, 82% et 97% des souches.

L'association sulfaméthoxazole-triméthoprimine a une activité moyenne ,inhibant presque la moitié seulement des souches avec un taux de résistance de 45%.

Quant à l'acide fusidique, il présente aussi une grande efficacité sur ces souches (83% des souches) .

III-1-1-1-2 Souches Béta-lactamases positives

Sur les 118 souches testées 95 ont sécrété des pénicillinases.

◆ Sensibilité aux Bétalac,tamines

Toutes les souches productrices de Bétalactamases (pénicillinases) sont résistantes à la pencilline G. Une faible proportion de ces souches est Méthi-R ; donc ces souches sont sensibles à l'oxacilline.

L'association amoxicilline-acide clavulanique s'est révélée très active sur ces souches avec un taux de sensibilité de 93%.

◆ Sensibilité aux autres antibiotiques

La gentamicine, l'érythromycine et la ciprofloxacine ont inhibé respectivement 94% , 83% et 97% des souches. Ce qui indique leur très bonne activité.

L'association sulfaméthoxazole- triméthoprimine a eu une activité moyenne (47% de ces souches ont résisté à cet antibiotique).

Quant à l'acide fusidique , il garde une activité correcte avec un taux d'inhibition très élevé (80%).

III-1-1-1-3 Souches Méthi-R bêta-lactamases positives

◆ Sensibilité aux bêta-lactamines

Ces souches associent deux des mécanismes de résistance les plus importants des staphylocoques aux bêta-lactamines. Toutes les souches Méthi-R sont résistantes aux bêta-lactamines.

◆ Sensibilité aux autres antibiotiques

Ces souches sont moyennement sensibles aux aminosides, aux MLS et à l'acide fusidique.

La ciprofloxacine s'est révélée très efficace avec 94% des souches inhibées. Mais l'association sulfaméthoxazole- triméthoprimine a une faible activité avec seulement 23% des souches inhibées

III-1-1-1-4 Souches Méthi-R bêta-lactamases négatives

Ces souches expriment un seul mécanisme de résistance aux Bêta-lactamines.

Cependant elles résistent à la pénicilline G et à l'oxacilline et sont sensibles à tous les autres antibiotiques testés.

III-1-1-1-5 Souches Méthi-S Bêta-lactamases positives

Ces souches ont une grande résistance à la pénicilline G mais sont sensibles à tous les autres antibiotiques testés à l'exception de l'association sulfaméthoxazole- triméthoprimine qui présente une activité moyenne avec 46% des souches inhibées.

III-1-1-1-6 Souches Méthi-S Bêta-lactamases négatives

Ces souches sont très sensibles aux antibiotiques mais résistent à la pénicilline G . Cependant, la moitié d'entre elles (52%) sont sensibles à l'association sulfaméthoxazole-triméthoprimine.

III-1-1-2 Les Entérocoques

Parmi les souches de streptocoques, celles d'entérocoques sont principalement les plus résistantes. Un nombre de 65 souches d'entérocoques ont été étudiées entre 1990 et 2000 et aucune de ces souches n'a été productrice de bêta-lactamases.

Tableau XIV : Phénotype de résistance des souches d'entérocoques testées

Souches	Béta-lactamines			Aminosides	TET	MLS	Quinolones	Sulfa-trimétho	Vancomycine
	Peni G	Oxa	Amx -ac clavula						
Entérocoques n= 65	MS	R	S	R/MS	R	R	MS	R/MS	S

III-1-1-2-1 Sensibilité aux Béta-lactamines

Ces souches ont eu une sensibilité intermédiaire à la pénicilline G (63% de souches inhibées)

Cependant, elles ont été très sensibles à l'association amoxicilline-acide clavulanique et très résistants à l'oxacilline qui n'a inhibé que 33% des souches.

III-1-1-2-2 Sensibilité aux autres antibiotiques

De 1990 à 2000, le profil de sensibilité des entérocoques à ces antibiotiques reste presque le même :

- Les aminosides (gentamicine et streptomycine) :
Certaines souches ont présenté une résistance et d'autres une sensibilité intermédiaire. La streptomycine a une mauvaise activité avec des CMI₅₀ et CMI₉₀ très élevées.
- La vancomycine a eu une bonne activité en inhibant la totalité des souches avec des CMI basses.
- La ciprofloxacine a eu une activité moyenne (48%) confirmée par des valeurs de CMI₅₀ et CMI₉₀ comprises dans la zone intermédiaire.

- L'association sulfaméthoxazole-triméthoprimine a montré une grande résistance en 1994, une sensibilité moyenne en 1998 et 1999.
- L'érythromycine et la tétracycline ont été moins actives avec seulement un faible pourcentage de souches inhibées (respectivement 25% et 14% des souches inhibées).

III-1-2 Phénotypes de résistance et profil de sensibilité des bacilles à Gram négatif

III-1-2-1 *Escherichia coli*

Globalement de 1990 à 2000 un nombre de 154 souches ont été testées

Tableau XV: Phénotypes de résistance et sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* testées

ATB	Béta-lactamines	Aminosides	Quinolones	Sulfa/triméto
Souches d'E. coli				
Sauvages n = 53	S	S	S	R
PNB n = 7	-	S	S	R
PHN n = 69	R	S	S	R
P+C n = 6	-	-	S	R
BLSE n = 19	S	S	S	R

III-1-2-1-1 Sensibilité aux bêta-lactamines

Plus de 30% des souches sauvages d'*E. coli* ont été sensibles aux bêta-lactamines. Mais la moitié d'entre elles a été résistante aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et aux céphalosporines de première génération décrivant ainsi le phénotype « pénicillinase haut niveau ».

Parmi les 154 souches d'*E. coli* isolées, 19 ont été productrices d'un bêta-lactamase à spectre élargi. Et pour ces souches, les Céphalosporines de deuxième et troisième génération ont présenté une bonne activité en inhibant la quasi-totalité des souches avec des CMI90 très basses inférieures au seuil de sensibilité .

III-1-2-1-2 Sensibilité aux autres antibiotiques

Les souches d'*E. coli* ont été très sensibles vis à vis des aminosides (Amikacine, Gentamicine) avec plus de 90% de souches inhibées ; et des quinolones (Ciprofloxacine) qui ont inhibé 94% des souches. Cependant l'association sulfaméthoxazole-triméthoprimine n'a pas été très active sur les souches sauvages. Elle a présenté seulement 45% de souches inhibées.

III-1-2-2 Les Klebsielles

Au cours des dix dernières années, un total de 74 souches de Klebsielles (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) a été isolé. On a surtout noté leur sécrétion importante de bêta-lactamases à spectre élargi.

Tableau XVI : Phénotypes de résistance et sensibilité aux antibiotiques des souches de Klebsielles testées

ATB Souches Klebsielles	Béta- lactamines	Aminosides	Quinolones	Cotrimoxazole
Sauvages n = 33	S	S	S	R
PHN n = 32	MS	S	S	R
BLSE n = 9	S	MS	S	R

III-1-2-2-1 Sensibilité aux Béta-lactamines

La majorité des souches sauvages ont été sensibles à l'acide clavulanique associé à l'amoxicilline qui va ainsi corriger la résistance naturelle des Klebsielles aux aminopénicillines. Les céphalosporines de deuxième et de troisième génération ont présenté globalement une assez bonne activité.

Toutes les souches de *Klebsiella oxytoca* ont présenté le phénotype « pénicillinase bas niveau », mais l'association amoxicilline / acide clavulanique en a inhibé plus de la moitié. Cependant elles ont été sensibles à tous les autres antibiotiques testés.

La plus grande sensibilité des souches de Klebsielles sécrétrices de BLSE est observée avec les antibiotiques de troisième génération (ceftriaxone et céfotaxime) qui ont réagi avec des CMI₅₀ et CMI₉₀ très basses.

III-1-2-2-2 Sensibilité aux autres antibiotiques

Les souches de Klebsielles testées, ont été très sensibles aux aminosides surtout à l'amikacine qui a inhibé la totalité des souches avec des CMI₅₀ et CMI₉₀ très basses. Cependant les souches productrices de BLSE ont été moyennement sensibles.

Les quinilones (la ciprofloxacine) se sont révélés très actifs en inhibant 95% de ces souches ; contrairement au cotrimoxazole qui a eu une très mauvaise activité.

III-1-2-3 Pseudomonas aeruginosa

Chez ces souches, on a constaté toutefois une production importante de « pénicillinase haut niveau » mais aussi de « céphalosporinases ».

Avec les 57 souches étudiées durant ces 10 dernières années, on a retrouvé les résultats suivants :

Tableau XVII : Phénotypes de résistance et sensibilité des souches de pseudomonas testées aux antibiotiques

ATB Souches	Béta-lactamines	Aminosides	Quinolones	Sulfa- triméto
Sauvages n = 26	R	S	S	R
Pénicillinase Haut niveau n=20	R	S	S	R
Céphalosporina se n = 11	R/MS	S	S	R

III-1-2-3-1 Sensibilité aux Béta-lactamines

Toutes les souches se sont révélées particulièrement résistantes aux bêta-lactamines à l'exception de l'azlocilline (96%) de la pipéracilline (100%) et de l'aztréonam (90%). Quant aux céphalosporines de troisième génération, comme la ceftazidime (26% de résistance) et la ceftriaxone (50%), elles ont été inefficaces sur ces souches (1998). Alors qu'en 1992, aucune résistance absolue ne s'est révélée pour ces céphalosporines, mais la totalité des souches ont présenté une sensibilité intermédiaire au cefotaxime et au ceftriaxone.

III-1-2-3-2 Sensibilité aux autres antibiotiques

Les aminosides surtout l'amikacine, se sont montrés très efficaces sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa* avec 87% de souches inhibées.

C'est aussi le cas des quinolones (ciprofloxacine) avec un taux de sensibilité très élevé (88%).

Par contre l'association sulfaméthoxazole-triméthoprimine a eu une faible activité sur ces souches.

III-2 – Résultats de la sensibilité en fonction du produit Pathologique

III-2-1 Cocci à Gram positif

III-2-1-1- Urines

- *Staphylococcus aureus*

La pénicilline G, l'association Sulfamethoxazole / triméthoprimine ont une activité nulle.

La ciprofloxacine, la vancomycine et l'association amoxicilline / acide clavulanique ont inhibé chacune la totalité des souches de staphylocoques isolées.

- Entérocoques

Les souches urinaires d'entérocoques ont toutes été sensibles à la ciprofloxacine .

En outre aucune résistance à haut niveau n'a été observée avec la gentamicine.

Cependant, la tétracycline a eu une activité nulle.

III-2-1-2 Hémocultures

- *Staphylococcus aureus*

La méthicillino-résistance a concerné seulement 4% des souches isolées. Ainsi , l'oxacilline a été actif sur 96% des souches .

Cependant la pénicilline G a eu une action presque nulle.

Par contre, l'érythromycine et la gentamicine ont donné des taux de sensibilité de 78% et 96%, respectivement.

En outre, l'ofloxacine (100%), la tobramycine (100%), l'imipéném et la Rifampicine (97%) se sont montrées les plus efficaces.

- **Entérocoques**

Les souches isolées d'hémocultures ont présenté des taux de résistance à haut niveau aux aminosides très importants : 67% pour la gentamicine et 100% pour la streptomycine.

La tétracycline et l'érythromycine ont présenté des activités nulles.

Cependant 33% des souches ont présenté une sensibilité intermédiaire à l'ampicilline.

III-2-1-3 Pus

- **Staphylococcus aureus**

Les souches testées sont surtout isolées de pus.

84% des souches sont sensibles à l'oxacilline.

l'association amoxicilline-acide clavulanique a été très active en inhibant 91% des souches à CMI basses.

Cependant la pénicilline n'a été active que sur 6% des souches alors que la ciprofloxacine, la rifampicine et la vancomycine ont donné de très bonnes activités avec respectivement 98%, 97% et 99% de sensibilité.

- **Entérocoques**

Les hauts niveaux de résistance aux aminosides ont été de 31% pour la gentamicine et 54% pour la streptomycine.

III-2-2 Bacilles à Gram négatif

III-2-2-1 Urines

- ***Escherichia coli***

Aucune souche testée n'a été sensible à l'amoxicilline dont l'activité a été particulièrement restaurée par l'association amoxicilline-acide clavulanique (54%).

Cette résistance est accompagnée de la résistance à la piperacilline (23%).

50% des souches ont été productrices de pénicillinases à haut niveau de résistance attestant ainsi la mauvaise activité des aminopénicillines et des carboxypénicillines.

Les aminosides ont présenté une bonne activité.

- ***Klebsielles (Klebsiella pneumoniae)***

Aucune souche testée n'a été sensible à l'amoxicilline.

Cette résistance est corrigée en grande majorité par l'acide clavulanique additionné à l'amoxicilline.

Plus de 80% des Klebsielles ont sécrété des pénicillinases à bas niveau de résistance inactivant complètement les aminopénicillines.

- ***Pseudomonas aeruginosa***

Plus de la moitié des souches ont été sensibles aux bêta-lactamines.

L'association de la Ticarcilline à l'acide clavulanique n'a pas donné de bons résultats.

La cefépime et la ceftazidime ont donné de bons résultats avec respectivement 86 et 88% de sensibilité.

L'amikacine a été très active (88% de sensibilité) alors que la gentamicine a donné une sensibilité moyenne de 50%.

La ciprofloxacine a été la plus active de tous les antibiotiques testés sur les souches urinaires de pseudomonas avec 100% de sensibilité.

III-2-2-2 Hémocultures

- *Escherichia coli*

Comme dans les urines aucune souche testée n'a été sensible à l'amoxicilline et l'association amoxicilline-acide clavulanique a corrigé cette résistance avec 50% de sensibilité.

L'amikacine a été très active avec 100% de sensibilité de même que la gentamicine qui a donné une sensibilité élevée de 91%.

La ciprofloxacine a été active sur les souches avec 92% de sensibilité.

- *Klebsielles (Klebsiella pneumoniae)*

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* testées se sont montrées résistantes aux antibiotiques testés sauf à la céfoxitine, à l'amikacine et à la ciprofloxacine qui sont restées efficaces avec des CMI basses.

- *Pseudomonas aeruginosa*

Les souches ont été très sensibles à l'ensemble des antibiotiques testés à l'exception de la ticarcilline.

III-2-2-3 Pus

- *Escherichia coli*

Aucune souche n'a été sensible à l'amoxicilline dont l'activité est améliorée par l'association avec l'acide clavulanique.

Cependant on a noté une souche sécrétrice de bêta-lactamases à spectre élargi. Mais c'est le phénotype « pénicillinase + céphalosporinase » qui a dominé avec augmentation des CMI de la céfalotine, de la pipéracilline et de l'association sulfaméthoazole-triméthoprime.

Les aminosides ont été très efficaces avec 91% et 100% de sensibilité respectivement pour la gentamicine et l'amikacine.

La ciprofloxacine a eu les CMI les plus basses.

- **Klebsielles (*Klebsiella pneumoniae*)**

Les souches testées ont présenté une résistance aux différents antibiotiques testés.

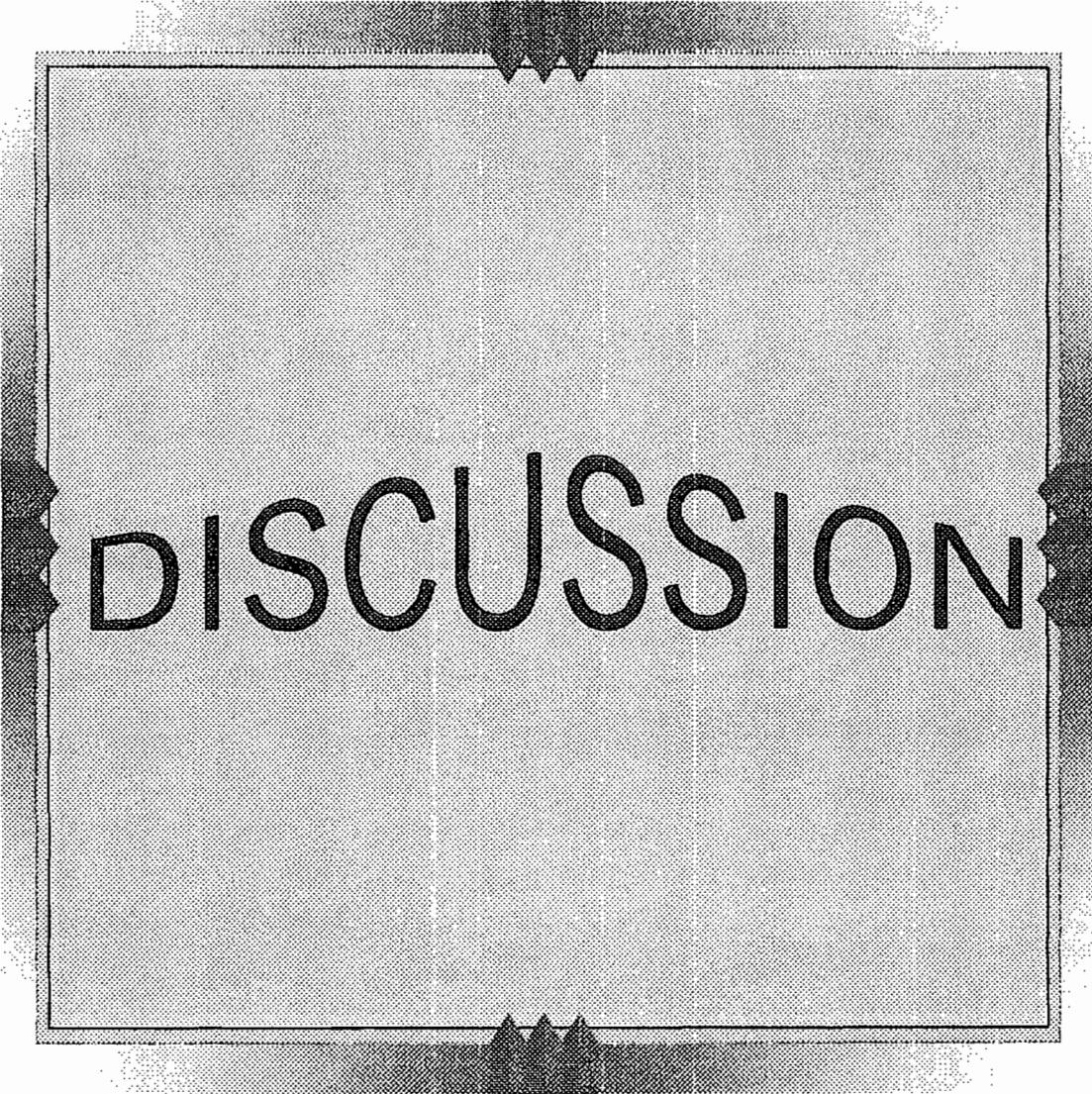
Cependant on a noté des souches productrices de bêta-lactamases à spectre élargi.

Ces souches ont été résistantes surtout à la céfalotine, à la pipéracilline, au cotrimoxazole et même à la ciprofloxacine (14%).

- ***Pseudomonas aeruginosa***

Le taux d'inhibition de la ticarcilline est de 67%.

Cependant l'activité des antibiotiques a été nettement améliorée par rapport aux résultats globaux.



DISCUSSION

IV / DISCUSSION

Dans cette étude, les différents résultats obtenus seront comparés avec ceux d'autres auteurs afin d'évaluer le comportement des différentes souches bactériennes isolées et le plus souvent impliquées dans les infections nosocomiales durant les dix dernières années.

IV -1 Etude de la sensibilité en fonction des germes

IV-1-1 Cocci à Gram positif

IV-1-1-1 Les Staphylocoques

◆ Les Béta-lactamines

Dans notre étude, on a constaté qu'une faible proportion des souches de staphylocoques isolées sont des souches méthi-R. Ceci a été confirmé par FAYE I. (46) qui a retrouvé en 1997, 10% de souches méthi-R, mais aussi par DIA N. en 1998 (36) qui a trouvé 23,9% et par DRAME B. G. en 1999 (42) qui a trouvé 14%.

D'autres auteurs ont montré qu'il y a une différence importante des pourcentages de résistance entre le Nord et le Sud de l'Europe. Ces pourcentages sont généralement faibles dans les pays du Nord et supérieurs à 40% dans les pays du sud (125).

La fréquence des *Staphylococcus aureus* méthicillinorésistants varie selon l'activité des services, la nature des infections, la politique de prophylaxie et de thérapie antibiotique suivie dans les hôpitaux .

Cette résistance des Staphylocoques à l'oxacilline est une résistance intrinsèque d'origine chromosomique, exprimée seulement par quelques individus au sein d'une population.

Des 118 souches testées au cours de cette étude, seulement 23 ne produisent pas de bêta-lactamases. Ces souches sont sensibles à l'amoxicilline et à l'association amoxicilline- acide clavulanique, mais sont résistantes à la pénicilline G.

On a remarqué que toutes les souches (productrices ou non de bêta-lactamases), sont résistantes à la pénicilline G.

Ces résultats sont confirmés par MARRA M. A. en 1998 **(87)** qui n'a trouvé que 7% de souches sensibles à la pénicilline G, par WADE A. (6,25%) **(127)**, FAYE I. (7%) et Sy K. R. (8,8%) **(118)**.

Cette résistance à la pénicilline G pourrait s'expliquer chez les souches bêta-lactamases positives, par la sécrétion de pénicillinases par *Staphylococcus aureus*.

On a aussi constaté que les souches méthi-R sont résistantes à tous les bêta-lactamines.

◆ Les autres antibiotiques

Au cours de notre étude globale, on a constaté que la gentamicine, l'érythromycine et la ciprofloxacine se sont montrées très actives sur les souches de staphylocoques ; que ces souches soient productrices ou non de bêta-lactamases, méthi-R ou méthi-S.

Ces résultats sont superposables avec ceux de MARRA M. A. qui a trouvé des taux de sensibilité de 92% pour la gentamicine , 82% pour l'érythromycine et 98% pour la ciprofloxacine .

➤ Les macrolides lincosamines et streptogramines (MLS)

Au cours de notre étude, les lincosamines et les streptogramines n'ont pas été testés. Cependant, la résistance aux MLS est induite par l'érythromycine **(70)**. Ainsi en 1997, Faye I. trouva 78% de souches sensibles à l'érythromycine et DRAME B. G. en 1999 a trouvé 7% de

souches résistantes à cet antibiotique. Cela confirme une étude menée en 1996 à HALD (9,7%) par Sy K. R. **(118)**.

En 1993, ADAM F. **(2)** de l'institut Pasteur publia 80,9% de sensibilité à l'érythromycine. Dia N. en 1998 trouva 12% de souches résistantes à l'érythromycine. par contre des résultats observés en 1992 dans un centre hospitalier de Remiremont sont de 37,9% pour les souches résistantes à l'érythromycine **(105)**.

Les taux de résistance observés dans notre étude sont nettement plus faibles que ceux des études précédentes. Probablement, ces différences peuvent être liées à des principes de sélection de souches différentes.

➤ Les aminosides

Ils ont été très efficaces sur les différentes souches de staphylocoques. Dans cette famille d'antibiotiques les molécules les plus utilisées étaient la gentamicine et l'amikacine , qui ont donné d'excellents résultats. Elles ont été très efficaces en inhibant presque tout le temps, la majorité des souches. Cette grande efficacité a été montré en 1996 par SY K. R. et par Marra M. A. qui a trouvé 92% de souches sensibles à la gentamicine. DIA N. en 1998 a montré des taux de sensibilité de 100% pour l'amikacine et 93% pour la gentamicine .

Le faible taux de résistance à l'amikacine pourrait être lié à son usage exclusivement hospitalier.

Plusieurs études réalisées à travers le monde rapportent 88% (FAYE I.) , 96% (WADE A.) et 88,64% **(34)**.

Ces résultats, superposables aux nôtres confirment que la gentamicine et l'amikacine sont de bons antistaphylococciques.

➤ Les quinolones

Ils ont toujours montré une grande efficacité vis à vis des staphylocoques.

Ceci est confirmé par l'étude menée en 1998 par MARRA M. A. qui a montré que seuls 2% des souches n'ont pas été inhibées par la gentamicine.

Cet antibiotique constitue ainsi un bon choix thérapeutique dans la famille des quinolones à côté de la Norfloxacin 83% de sensibilité **(45)** et 85% **(127)** et de l'Ofloxacin 100% **(118)**

➤ L'association sulfaméthoxazole-triméthoprime .

La sensibilité des souches à cet antibiotique est très moyenne.

Cependant, elle s'est montrée très efficace sur les souches méthi-R, bêta-lactamases positives.

Leur activité moyenne a été confirmée par MARRA M. A. (55% de sensibilité) et par DRAME B. G. Ce taux est très différent de ceux obtenus en 1995 (94% de résistance) **(26)**, en 1993 (73,1%) **(35)** et en 1996 (87%) **(127)** .

Cette évolution vers la résistance pourrait être la conséquence d'une utilisation abusive pouvant exercer une pression de sélection sur les souches.

➤ L'acide fusidique

Il a été très actif avec 83% d'inhibition.

Ces résultats sont proches de ceux de DRAME B. G. (83%), de FAYE I. (88%) et légèrement décalés de ceux de SY .K.R (93%) et WADE.A (94%).

L'acide fusidique est un antistaphylococcique majeur ; cependant, il est conseillé de l'utiliser en association afin de prévenir l'émergence de mutants chromosomiques **(45 et 93)**.

IV-1-1-2 *Enterocoques*

Aucune des souches d'entérocoques étudiées n'a été productrice de bêta-lactamases.

Cependant, une étude multicentrique réalisée aux Etats-Unis a montré que des souches d'entérocoques productrices de bêta-lactamases n'ont été retrouvées que dans 1 centre sur 97, et ces souches ne représentent que 0,2 % des souches (**68**).

Ces souches ont été moyennement sensibles à la pénicilline G (63% de sensibilité).

Un taux de résistance de 16,7% à la pénicilline a été trouvé lors de l'étude menée en 1996 par SY . KR.

Cette résistance serait surtout de niveau intermédiaire, n'excluant pas le traitement par la pénicilline à fortes doses (**44**).

De nombreuses études ont montré que ces souches sont très sensibles à l'ampicilline.

C'est le cas d'une étude menée au CHU de Naples qui a rapporté que l'ampicilline était active sur toutes les souches testées (**124**). DRAME B. G. a confirmé ces résultats.

Ces études nous ont poussés à penser qu'il n'y a pas à travers le monde une évolution de cette résistance et que donc l'ampicilline peut demeurer l'antibiotique de choix dans les infections à entérocoques.

vis à vis des aminosides, les souches d'entérocoques ont présenté une résistance à bas niveau à ces aminosides, d'après nos résultats et conformément à la littérature (**43,50**).

Cette résistance naturelle est liée à une mauvaise pénétration des aminosides dans la bactérie et n'empêche pas la synergie entre les bêta-lactamines et les aminosides (**92**).

Ces souches ont aussi présenté un haut niveau de résistance à la streptomycine et à la gentamicine.

Le pourcentage de haut niveau de résistance trouvé (60%) est un peu plus élevé que celui décrit par BA S. (9) en 1994 (45%).

Cette résistance à haut niveau serait due à une production d'enzymes modifiant les aminosides.

Des taux de résistance élevés ont été trouvés avec la tétracycline et l'érythromycine.

Ceci coïncide avec des résultats trouvés aux Etats Unis (60 à 80%) pour la tétracycline (61) et (3% de sensibilité) pour l'érythromycine (68).

La ciprofloxacine a eu une activité moyenne (48%). Ceci est confirmé par une autre étude (109).

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

IV-1-2 Bacilles à Gram négatif

IV-1-2-1 *Eschérichia coli*

C'est l'espèce la plus isolée des bacilles à Gram négatif. Il occupe ainsi une grande place au sein des infections urinaires communautaires (32, 123).

◆ Les bêta-lactamines

Au cours de cette étude, on a constaté que plus de 30% des souches ont été sensibles aux bêta-lactamines. Mais la moitié d'entre elles a été résistante aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et aux céphalosporines de première génération.

Cette résistance a aussi été soulignée par DIA N. qui a trouvé 76% de souches d'*Eschérichia coli*, résistantes à l'ampicilline.

Cette résistance est surtout observée chez les souches ayant le phénotype « pénicillinase haut niveau ».

Donc elle ne peut être liée qu'à la sécrétion de bêta-lactamases dont les pénicillinases par ces souches.

On note aussi une résistance élevée à l'amoxicilline. les mêmes résultats ont été trouvés par Faye I. (87% de souches résistances) , DIOP M. D. (39) (68%) et SY K. R. (67%).

Ces pourcentages sont bien au delà de ceux rapport par certains auteurs 33,9% ; 34,4% ; et 51,5% (102, 103, 128). L'addition d'acide clavulanique a permis de restaurer l'activité de l'amoxicilline.

Ainsi, des études menées en Algérie et au Maroc ont montré une amélioration de la sensibilité par l'association amoxicilline-acide clavulanique et les taux de sensibilité obtenus sont : 76% en Algérie (107) et 66,6% au Maroc (12) .

D'autres études menées à Fann en 1996 (90) et à Dantec en 1997 (46), ont montré une activité faible de l'association amoxicilline-acide clavulanique sur les souches d'*Eschérichia coli* testées.

Ces résultats ont été aussi confirmés par TIDJANI A. (120) en 1998 qui a trouvé un taux de résistance de 29%.

Cette résistance à l'association amoxicilline-acide clavulanique nous a permis d'émettre l'hypothèse d'une baisse de l'activité des bêta-lactamines inhibiteurs des bêta-lactamases.

Cette baisse peut être due soit à une hyperproduction de pénicillinase, soit à l'inactivation de l'inhibiteur lui même (118).

A coté des pénicillines, nous avons les céphalosporines, notamment les céphalosporines de troisième génération : le Ceftriaxone (100%), et la Ceftazidime (92%), qui se sont avérées très efficaces.

Ces résultats sont en partie identiques de ceux de NDIAYE Y. K. (97).

Cependant, on a noté une faible production de « pénicillinase + céphalosporinase ».

◆ Les autres antibiotiques

➤ Les aminosides

Ils ont montré une bonne activité. Ceci a été confirmé par de nombreuses études :

Les travaux de TIDJANI A. (120) en 1998, ont montré 92% de sensibilité pour la gentamicine et 91% pour l'amikacine.

DRAME B. G. (42) en 1999 a trouvé 94% et 100% de sensibilité, respectivement pour la gentamicine et l'amikacine.

DIOP A. (38) en 1994, a rapporté des taux de sensibilité de 100% pour l'amikacine.

En 1992, à l'hôpital de la conception à Marseille, 20% des souches d'*Escherichia coli*, étaient résistantes à l'amikacine (88).

➤ Les quinolones

Ils ont été très efficaces avec presque toujours 100% de sensibilité. Ils ont été représentés par la Ciprofloxacine.

Cependant, aucune souche d'*Escherichia coli* n'a été insensible à cette molécule. Toutefois des taux de résistance de 6,3% et 4,6% ont été observés au Bénin et en France en 1992.

➤ L'association Sulfaméthoxazole-triméthoprim

Ce produit s'est montré très inefficace sur les souches d'*Escherichia coli*. Des taux de résistance de 55 et 64% ont été trouvés respectivement par

DRAME B. G. et DIA N. Des taux plus faibles ont été retrouvés au Sénégal (8,2%), au Mali (34-53%) et au Bénin (45,5%), en 1991 **(74)**.

Cette évolution de la résistance d' *Escherichia coli* au cotrimoxazole, serait due au fait que cette molécule est très souvent utilisée aussi bien en milieu hospitalier qu'en ville et parfois même en automédication.

IV-1-2-2 Les Klebsielles

◆ Les bêta-lactamines

Les klebsielles présentent une résistance naturelle aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines par production d'une « pénicillinase bas niveau », correspondant au phénotype sauvage.

Toutes les souches testées sont résistantes à l'amoxicilline, avec une restauration de l'activité par association avec l'acide clavulanique.

Les phénotypes de résistance rencontrés sont :

- sauvages
- pénicillinase haut niveau
- bêta-lactamases à spectre étendu

Leurs pourcentages varient d'une année à l'autre, en fonction du nombre de souches testées.

Ces résultats montrent que la résistance est liée à la production de bêta-lactamases.

Ces résultats sont superposables à ceux obtenus en 1991 dans une étude française **(111)** dans laquelle la sensibilité est de 65%.

A côté des pénicillines, il y a des céphalosporines avec lesquels les klebsielles se sont révélés très sensibles notamment à la cefotaxime (94%), et aux céphalosporines de troisième génération (90%). Cette sensibilité élevée a été décrite par une étude menée en France de 1990

étroitement surveillé dans les années à venir du fait, de leur consommation importante.

Le cotrimoxazole n'est pas recommandé, du fait de sa faible efficacité sur ce germe.

- Pour les Klebsielles, elles peuvent être maîtrisées par les antibiotiques suivants :
 - les céphalosporines de troisième génération (ceftriaxone, ceftazidime)
 - les aminosides (gentamicine, amikacine)
 - les quinolones (ciprofloxacine)
- Pour *Pseudomonas aeruginosa* : les meilleurs antipseudomonasiques trouvés sont :
 - la piperacilline, active à 100%
 - les aminosides (amikacine surtout)
 - les quinolones

Pour l'ensemble des bactéries testées, le cotrimoxazole s'est révélé être particulièrement inactif. Donc, cet antibiotique ne devrait plus être utilisé dans nos structures hospitalières.

IV-2-2 Prise en charge préventive

C'est l'antibioprophylaxie qui est indiquée à chaque fois que le taux d'infection post opératoire est élevé pour une chirurgie donnée et / ou à chaque fois que le risque d'infection post-opératoire n'est pas acceptable compte tenu de sa gravité.

L'efficacité de l'antibioprophylaxie n'est plus à démontrer. Cependant les protocoles à mettre en œuvre demeurent le point de divergence entre les différents auteurs. Et ces protocoles doivent être établis localement après accord entre chirurgiens, anesthésistes, réanimateurs,

infectiologues, microbiologistes et pharmaciens. Ils feront l'objet d'une analyse économique par rapport à d'autres choix possibles. Leur efficacité sera régulièrement réévaluée par une surveillance des taux d'infections post opératoires.

IV-2-3 Les conditions d'hygiène

- **Le malade**

Il doit prêter une attention particulière à son hygiène corporel et vestimentaire et éviter l'utilisation commune (avec d'autres patients ou des visiteurs), d'ustensiles pour la nourriture ou les sanitaires. Chez les malades souffrant d'infection pulmonaire, les crachats doivent être recueillis dans un récipient ; lequel doit être vider régulièrement .

- **Le visiteur**

Le visiteur doit notamment éviter de cracher par terre et de manger à n'importe quel endroit de l'hôpital. un bain ou au moins un lavage des mains est indiqué, une fois chez lui .

- **Les personnel hospitalier**

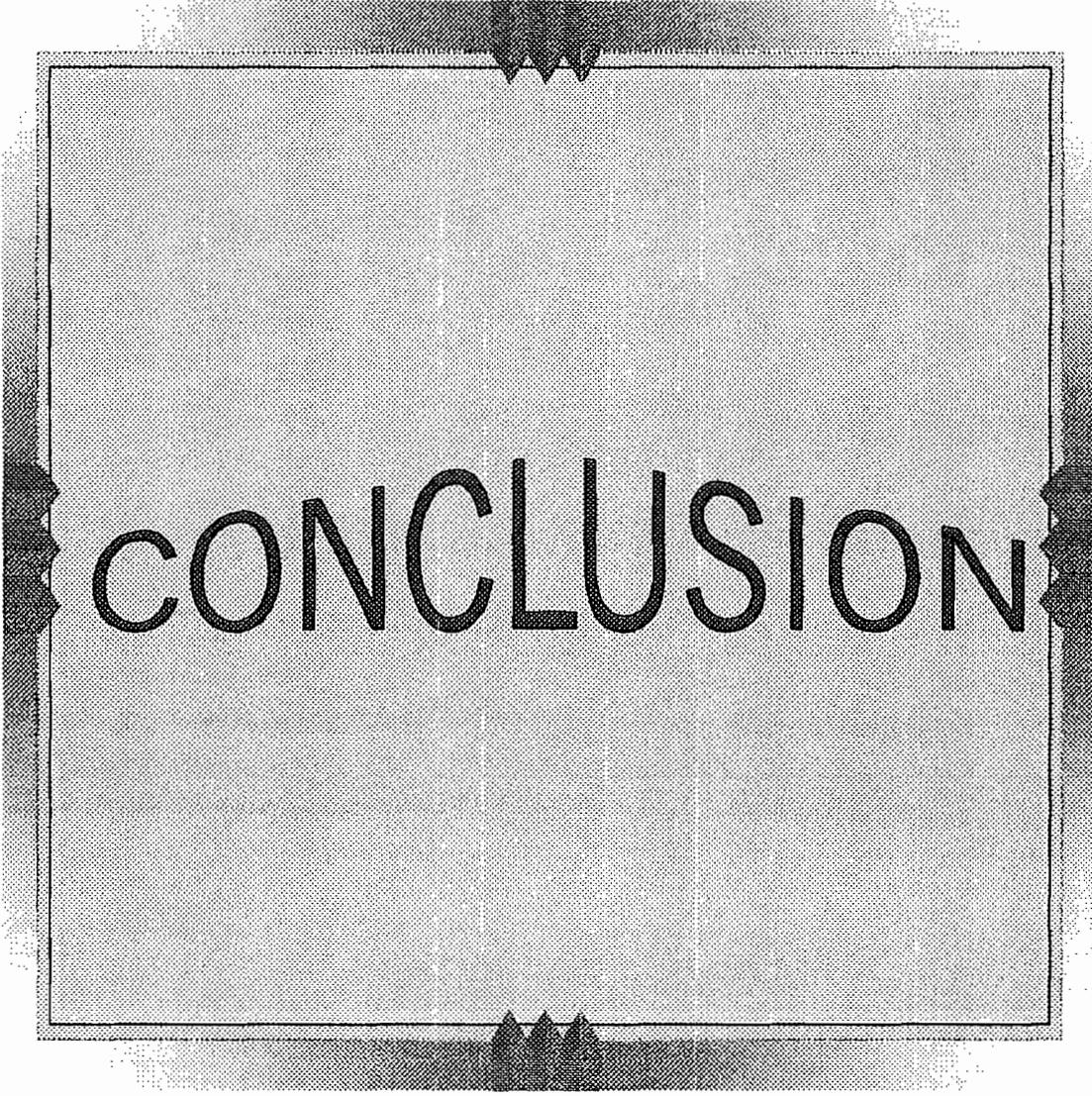
Pour le personnel soignant, le port de gants stériles doit être de rigueur avant tout acte médical et le lavage des mains après intervention.

Ceci est aussi valable pour les balayeurs de l'hôpital qui sont en contact direct avec les germes de l'atmosphère.

- **L'environnement hospitalier**

L'entretien des salles d'hospitalisation, d'opération et de soins doit se faire quotidiennement, avec des désinfectants adéquats. Les sanitaires aussi doivent être entretenus de la même façon.

Au niveau des salles d'hospitalisation, le changement des draps de lit doit être régulier. Le matériel médical et les solutions désinfectantes ne doivent être utilisés qu'après stérilisation.



CONCLUSION

CONCLUSION

Les infections nosocomiales définies comme des infections acquises à l'hôpital, demeurent un véritable problème de santé publique.

Leur fréquence et leur gravité font d'elles, la principale cause de morbidité en milieu hospitalier.

Leur gravité réside dans le fait qu'elles sont causées par une grande diversité de germes, mais surtout parce qu'elles interviennent sur des terrains déficients et que l'utilisation non rationnelle des antibiotiques, conduit à des résistances bactériennes entraînant ainsi une augmentation des risques d'infection et des difficultés thérapeutiques.

La synthèse d'un grand nombre d'antibiotiques durant ces dix dernières années a été un succès majeur pour la médecine.

Mais toutefois, l'apparition et la dissémination de souches bactériennes résistantes à un ou plusieurs antibiotiques, demeurent une réalité préoccupante pour le microbiologiste et le clinicien.

En effet, l'évolution de la résistance des germes aux antibiotiques a entraîné des mutations de la flore bactérienne. Ainsi, on assiste à l'émergence de souches multirésistantes responsables d'infections nosocomiales. Ces dernières peuvent entraîner des conséquences graves sur le pronostic vital des patients et entraîner un allongement de la durée d'hospitalisation et par conséquent des frais annexes.

La bonne compréhension et la maîtrise de ces infections nécessitent d'une part un bon isolement des germes responsables et d'autre part une bonne connaissance du comportement des germes vis à vis des antibiotiques.

Notre étude a porté sur les malades, notamment ceux de la réanimation, de la chirurgie, de l'urologie et de la maternité de l'H.A.L.D , mais aussi sur l'environnement hospitalier, le manuportage et les matériels médicaux de ces différents services.

On s'est aussi surtout intéressé sur les germes les plus indicateurs d'infections nosocomiales , en particulier, les Staphylocoques (*Staphylococcus aureus*), les Entérocoques, les Entérobactéries (*Escherichia coli*, et les Klebsielles), et *Pseudomonas aeruginosa*.

Le traitement des prélèvements effectués au niveau de ces différents services, a montré une prédominance des Entérobactéries (*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*) puis vient *Pseudomonas aeruginosa* et ensuite les cocci à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et les Entérocoques) .

Les résultats que nous avons obtenus sont résumés ainsi :

- **pour *Escherichia coli***

les aminopénicillines n'ont pas été très actifs, de même que les carboxypénicillines et les céphalosporines de première génération.

La sensibilité aux aminopénicillines, en particulier à l'amoxicilline peut être améliorée par l'addition d'inhibiteurs des bêta-lactamases comme l'acide clavulanique.

Les céphalosporines de troisième génération se sont révélées très efficaces.

Les aminosides et les quinolones ont montré une bonne activité. Ces deux groupes d'antibiotiques constituent une bonne alternative pour les infections dues à *Escherichia coli*.

L'association sulfaméthoxazole-triméthoprime a été particulièrement inactive sur ces souches et donc ne devrait plus être utilisée dans le

traitement de première intention à cause de l'augmentation importante de la résistance de *Escherichia coli* à cet antibiotique.

- **pour *Klebsiella pneumoniae***

Le profil de sensibilité est identique à celui de *Escherichia coli* : il est sensible aux bêta-lactamines (aux céphalosporines de troisième génération), aux aminosides, et aux quinolones mais résistant au cotrimoxazole.

- **pour *Pseudomonas aeruginosa***

L'antibiotique de choix est la piperacilline qui présente 100% d'efficacité. Les aminosides et les quinolones constituent aussi de bons antipyocyaniques.

- **pour *Staphylococcus aureus***

Les bêta-lactamines, en particulier, l'amoxicilline et l'association amoxicilline-acide clavulanique ont été très efficaces sur les souches de staphylocoques ; contrairement à la pénicilline G qui a montré une inefficacité sur toutes ces souches.

Quant aux autres antibiotiques, la gentamicine, l'erythromycine et la ciprofloxacine se sont montrées très actives sur les souches de staphylocoques.

L'association sulfaméthoxazole - triméthoprime a eu une sensibilité moyenne.

- **pour les Entérocoques**

L'ampicilline peut demeurer l'antibiotique de choix dans les infections à entérocoques. Elle a présenté des taux d'inhibition élevés et en général c'est l'ensemble des souches qui est inhibé.

Cependant, on a observé des souches d'entérocoques présentant une résistance à bas niveau aux aminosides ;

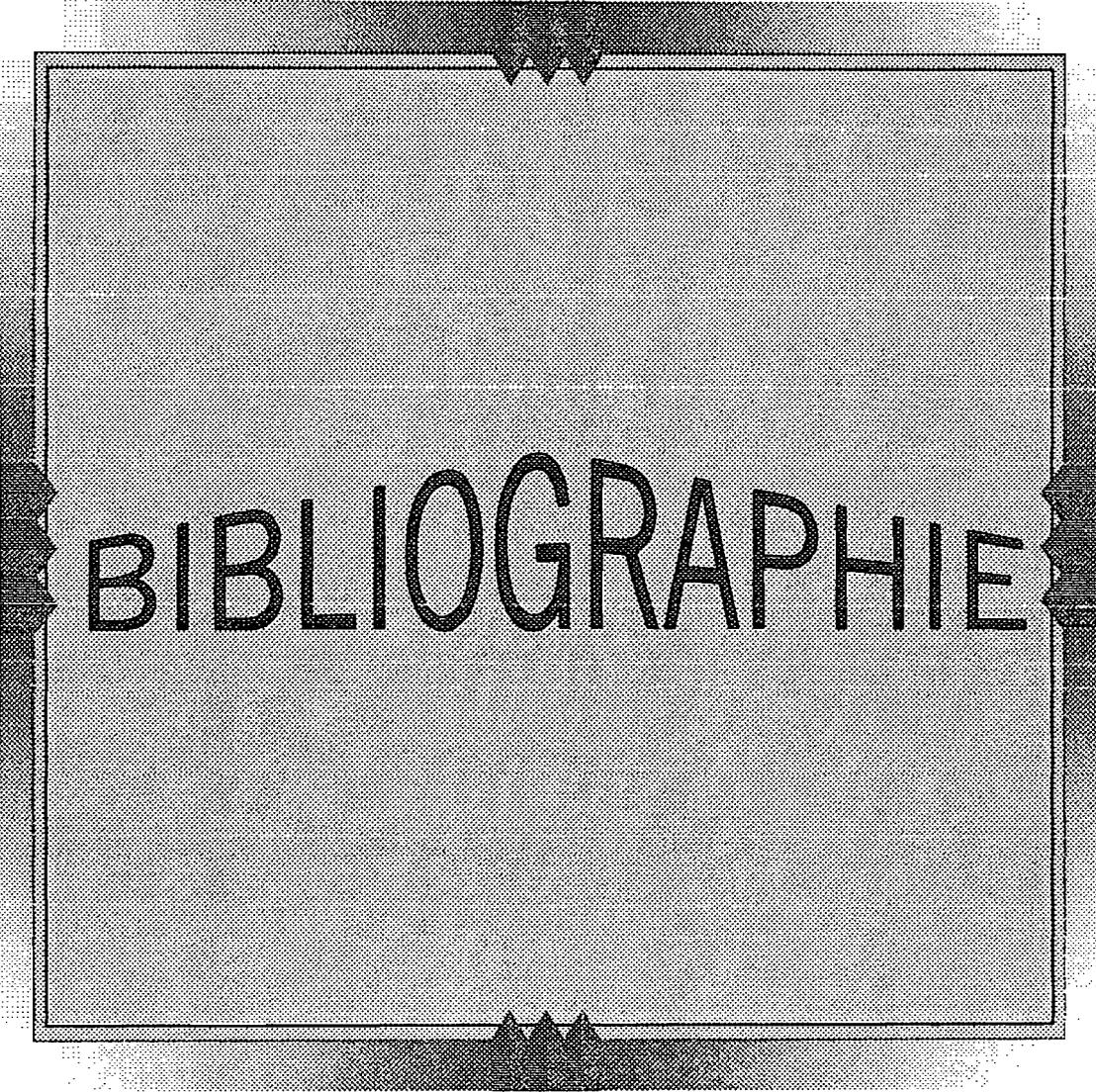
La tétracycline et l'erythromycine n'ont pas été très actives.

La ciprofloxacine a eu une activité moyenne.

D'une manière générale, il y a donc eu une évolution et une recrudescence des phénomènes de résistance durant ces dix dernières années, nécessitant ainsi des mesures préventives strictes , consistant à :

- mettre en place un comité d'hygiène hospitalier chargé de la formation permanente du personnel en hygiène hospitalière.
- améliorer l'hygiène des malades et aussi de l'environnement hospitalier.
- respecter un maximum d'asepsie au cours des procédures et des gestes iatrogènes.
- établir un règlement pour les visiteurs
- éviter la prescription irrationnelle des antibiotiques
- mener régulièrement ou même chaque année, des études sur l'écologie bactérienne afin de déceler des changements au niveau du comportement de la bactérie vis à vis des antibiotiques.

L'application de toutes ces mesures de base permettra de limiter la survenue d'infections nosocomiales.



BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1- ABER R.C. ; AND MACKEL D.C.

Epidemiologic typing of Nosocomial microorganism
In the manuel of microbiology Washington
2éme ED, 1981 ,p.118

2- ADAM . F

Aérobies gram positif-staphylococcus
La lettre aux médecins
Institut Pasteur , Dakar, 1993, n°2, 1 p

3-ANAGONOU S. Y ; ESLAHIPAZIRE . J., MAKOUTOBE.M., JOSSE.R., MASSOUGBODJI. A., CADELER ; B. C .

Sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif isolées
d'infections urinaires au CHNU de Cotonou (Benin) de mars à
décembre 1992
Bull. Soc. Path. Ex, 1994, 87, 223-225

4-ANDREMONT A.

Antibiotiques : données générales sur les modes d'action et les
mécanismes de résistance
Rev. Prat. 1993 ;43 (19) : 2545-50

5- ARBEIT R. D. ; KARAKAWA W.W. ; VANN W.F AND ROBINS J.B.

Predominance of two newly described capsular polysaccharide types among, clinical isolates of *Staphylococcus aureus*

Diag ; Microbiol. Infect. Dis, 1984 ;2 : 85-91

6-ARTHUR M. ET AL

Technique d'étude du support génétique de la résistance aux antibiotiques.

L'antibiogramme mpc- videom, 1^{ère} édition, paris, 1985 : 251-305

7-AZELE FERRON

Bactériologie médicale

Edition C. et R. (13^{ème}) 1989

8- BA M.

Etude des marqueurs épidémiologiques de souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à Dakar

Thèse. Pharm. Dakar , 1993, n°79.

9- BA S.

Phénotypage des souches de streptocoques sensibles aux aminosides.

Thèse. Pharm. Dakar ,1995, n°44

10- BAUERNFEIND A.

Classification of betalactamases

Rev. Infect. Dis ,1986 , 8 : Suppl. 5 , 470-478

11- BAYAN LCEC

Two forms of antimicrobial resistance : bacterial persistence and function resistance

J . Antimicrob chemother ; 1989, 23 : 817-823

12- BENBACHIR . M

Surveillance de la sensibilité in vitro aux antibiotiques de différents germes isolés de prélèvements trachéo-bronchiques, pus chirurgicaux, hémocultures, urines :

Médecine.digest., 1995, suppl.4 , 18-31

13- BEN REJEB S. ; KAMOUN A ;

Surveillance de la sensibilité in vitro de différents pathogènes isolés de prélèvements trachéobronchiques, pus chirurgicaux, hémocultures urines et d'isolats de N. gonorrhoeae

Medecine Digest, 1995, Suppl. 4, 24-31.

14- BEZZAOUCHA A. ; MAKHLOUF F. ; DEKKAR N. et LAMDJADANI

Prévalence des infections nosocomiales au CHU de Bad El Oued, Alger.

Med. Mal. Inf,1994, 2 :96-101.

15- BINGEN. E.

Mécanismes d'action des bêta-lactamines.

In « Mécanismes d'action de la bêta-lactamines : de la structure bactérienne à la structure de la molécule ».

Roussel, Nice, 1986,7-30

16- BISMUTH R.

Cocci à Gram positif et aminosides

in antibiogramme, 1985,29-39.

17- BRANGER C. ; GOULLET P.

Esterase electrophoretic polymorphism of methicillin sensitive and methicillin resistant strains of staphylococcus aureus

Med. Microbiol 1987 ; 275-281

18- BUSH K.

Characterization of beta -lactamases

Antimicrobiol . Agents Chemother. , 1989, 33 :259-263

19- CARBONNELLE B. ; DENIS F ; MARMONIER A. ; PINON G. ; VASQUES R.

Serodiagnostics des infections bactériennes

In Bacteriologie médicale ,Paris 1987, pp 309-319

20- CHABBERT Y. A.

21- CHABBERT Y. A .

L'antibiogramme. Sensibilité et résistance des bactéries aux antibiotiques. Collection technique de base.

Edition de la tourelle, Saint Mandé, 1963.

22- CHABBERT Y. A.

Sensibilité bactérienne aux antibiotiques in LEMINOR L. ; VERON M. ; Bactériologie médicale, 2^{ème} Ed, Flammarion, Med Sc. , Paris, 1989 : pp. 204-212.

23- CHEUNG A. L ; KOOMEY J. M ; BUTLEK C.A ; PROJAN. S. J ; FISCHETTI V. A.

Regulation of exoprotein expression in staphylococcus aureus by a locus (sar) distinct for agar.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA , 1992 ; 89 (14) : 6462 – 6466.

24- CHOPRA I.

Mechanisms of resistance to antibiotics and other chemotherapeutic agents

J. Appl. Bacteriol., 1988 , Symposium, Suppl : 149 – 166.

25- CHRISTOL D. ; BOUSSOUGANT Y. et TREGUER F.

Les germes de l'air. Procédés d'étude et de numération. Devenir spontané.

Presse médicale 1971, 79, 271-274.

25- CHRISTOL D. ; BOUSSOUGANT Y. et TREGUER F.

Les germes de l'air. Procédés d'étude et de numération. Devenir spontané.

Presse médicale 1971, 79, 271-274.

26- CHRYSOSTOME . N.J

Sensibilité aux antibiotiques de staphylococcus aureus isolé en milieu hospitalier.

Thèse. Med. Dakar, 1984, n°24

27- COURVALIN P. , CALIER C. , COLLATZE.

Plasmid mediated resistance to aminocyclitol antibiotic in D Streptococci.

J. Bacteriol. 1980, 43 : 541-551.

28- COURVALIN P. ; PHILLIPON A. ;

Mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne aux agents antibactériens.

In « le Minor L., Veron M, ect... »

Bactériologie médicale, 2^{ème} édition, Paris.

Flammarion, 1989 ; 332-55.

29- COURVALIN P. ; SHAW W.C. ; JACOB A. E.

Plasmid mediated mechanism of resistance to aminoglycoside, aminocyclitol antibiotics and to chloramphenicol in group D streptococci

J. antimicrob. Chemother. 1978 ; 13 : 716-725.

30- CULLMAN W.

L'induction non spécifique : définition et conséquences .

Med. Mal. Infect. , 1998, H. Série, 24.

31- CURTIS N.A.C. ; EISENSTADT R.L. ; TURNER K.A. ; WHITE A.J.

Porin mediated cephalosporin resistance in *Escherichia coli* K-12

J. Antimicrob. Chemother., 1985, 15, 642-644.

32- DELARBRE J. M. ; GRASMICK C.P. ; COUMENGES P. et Al

Sensibilité aux antibiotiques de *Escherichia coli* isolé
d'hémocultures et d'examens cyto bactériologiques des urines
réalisés dans 15 hôpitaux généraux du sud-Ouest de la France.

Med. Mal . Infect. 1994 ; 24, spécial : 535-8.

33- DE MOUY D. ; LEPARGNEUR J. P. ; AURIOL J.C. et Al.

Evolution des fréquences d'isolement et de la résistance des
souches d'*Escherichia coli* isolées d'infections urinaires en pratique
de ville de 1986 à 1993 .

Med. Mal. Infect. 1994 ; 24, Spécial : 539-42

34- DESOUZA. C ., GBEASSOR. M., KOU MAGLO. K .

Sensibilité aux antibiotiques des souches de *staphylococcus aureus*
isolées à Lomé.

Médecine Tropicale, 1988 ,vol 48, n°3, pp

35- DIA. B

Résistance des staphylocoques et des streptocoques aux antibiotiques.

Thèse. Pharm., Dakar, 1993, n°67

36- DIA N

Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes isolées d'hémocultures au CHU Aristide le Dantec .

Thèse. Pharm., Dakar, 1998, n° 55

37- DIA ; TINE L. ; EVRARD L. ; GENTILE B. et Al.

Sensibilité aux antibiotiques des germes isolés dans les cellulites d'origine dentaire au Sénégal. (Résultats d'une enquête sur 49 cas)

Dakar Médical 1993 ; 38 : 93-6.

38- DIOP A .

Caractères phénotypiques de différentes souches bactériennes nosocomiales isolées au service de gynécologie -- obstétrique de l'H.A.L.D (Dakar)

Thèse. Pharm., Dakar, 1994, n°82

39- DIOP M. D.

Etude de la sensibilité par E-test de souches de bacilles à Gram négatif isolées au C.H.U. de Dakar.

Thèse. Pharm., Dakar, 1998, n°69

40- DOPFTC. ; MAY Th. , CANTON Ph.

Acide fusidique

Editions techniques EMC (Paris, France),

Maladies infectieuses, 8-004 - J20, 1993, 2p.

41- DOSSO M.

Etude de la sensibilité in vitro aux antibiotiques de différents isolats bactériens à Abidjan : résultats à propos de 90 souches.

Médecine digest, 1995, Suppl. 4, 32- 38

42- DRAME B. G.

Phénotypes de résistance des souches bactériennes isolées au C.H.U. Le Dantec.

Thèse. Pharm ; Dakar, 1999, n°5

43- DUTKA – MALEN S. ; COURVALIN P.

Résistance aux glycopeptides et aux aminosides chez les entérocoques

Med. Mal. Infect. 1994 ;24, spécial : 158-164.

44- DUVAL J.

Classification et mécanismes d'action des agents antibactériens. In « Le Minor et Veron »

Bactériologie Médicale. Med. Sciences.

Flammarion 2^{ème} édition , Paris, 1989.

45- FALL M. I.

Comportement vis à vis des antibiotiques de 94 souches de Staphylococcus aureus isolées en situation pathogène au C.H.U de FANN, Dakar.

Thèse. Pharm, Dakar, 1992, n°83.

46- FAYE I.

Surveillance et sensibilité aux antibiotiques de souches bactériennes isolées à Dakar.

Intérêt de l'utilisation de la technique du E-test et du programme Whonet III .

Thèse. Pharm. , 1997, n°7.

47- FLORES M. R. ; HALEY J. A. ; ROSS T. W. ; LEE. H.

Vancomycine- resistant Enterococci : approach to treatment and control

Canc . Contr . J. 1996 ; 3 (1) : 1-8.

48- FONTANA . R.

Penicillin binding proteins and the intrinsic resistance to Beta- lactum in gram positive cocci

J. Antimicrob. Chemother. , 1985 , 412-415.

49- FRANCIOLI P.

Epidémiologie et contrôle des infections hospitalières. In REGNIER B. , BRUN BUISSON

CH.- L'infection en réanimation.

Ed. Masson, 1992, 17-34

50- FRANCOIS N. S. ; MAINARDI J. L.

Enterococcus faecalis : Aspects bactériologique épidémiologique et thérapeutique.

Feuil- Biol. 1998, 39 (220) : 21 :26.

51- GABASTON J. M. ;CHARAKI T. ; MANGEOT J. ; ET COLL

phénotypes de résistance aux antibiotiques des germes les plus fréquemment isolés dans cinq centres hospitaliers – spécialisés.
Etude multicentrique.

Path. Biol. 1995 ; 43, n°4 : 320 – 3

52- GODFREY A.J. ; HATLELID L. H. ; BRYAN L. E.

Correlation between lipopolysaccharide structure and permeability résistance in bêta-lactam resistant *Pseudomonas aeruginosa* .

Antimicrobiol. Agents. Chemother ; 1984, 26, 181-186.

53- GOERING R. U. ; WINTERS M. A.

Rapid méthode for epidemiological evaluation of Gram positive Cocci by field

In version gel electrophoreses.

J. Clin Microbiol, 1992 ; 30 (3) : 577-580.

54- GOLDSTEIN F.W ; GUERRIER M.L ET AL

In vitro emergence of simultaneous resistance to both bêta-lactam and aminoglycoside antibiotics in a strain of *Serratia marcescens*.

Ann. Microbiol. 1983, 134, 329-337.

55- GUTMANN L. , GOLDSTEIN F.

Staphylocoques et Béta-lactamines.

In : **COURVALIN P ; GOLDSTEIN F. ; PHILLIPON A. et AL**, eds.

L'antibiogramme . Paris : mpc- Videom . 1985 : 23-8.

56- GUTMANN L. ; WILLIAMSON R.. ; MOREAU ; et AL

Cross resistance of nalidixique acid, trimetoprim and chloramphenicol associated with alterations in outer membrane proteins of *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Serratia*, J. Infect. Dis ; 1985, 151, 501-507.

57- HALEY R.W. et AL

The nation wide nosocomial infection rate

Increased recognition of infection diseases in us hospitals.

The efficacy of infection surveillance and control programs.

Identifying high risk surgical patients.

58- HARTMAN B.J ; TOMASZ A.

Expression of methicillin resistance heterogenous strains of *Staphylococcus aureus*.

Antimicrobiol. Agents chemother ; 1986, 29, 85-92.

59- HAYES M.V ; WARD J.B.

The role of penicillin binding proteins in antimicrobiol activity of beta-lactam antibiotics In « Antibiotics in laboratory medecine »

Ed. v. Iorian, 1985, 722,-756.

**60- HEBERT G. A ; MORENO C.M.N ; CLARK N.C ; HILL B.C ;
JARVIS W.C ; THORNSBERRY C.**

Biotyping coagulase négative staphylococci

J. clin. Microbiol, 1988 ; 26(10) : 1950-1956

61- HENNING K ; BROWN A.E.

Vancomycin resistant enterococci

Infect . Urol ; 1995, 8(6) : 185-187.

**62- HORODNICEANU T. ; BOUSGUELERET. L. ; EL SOLHIN, BIETH
G. ; DELDOS F.**

High level plasmid born resistance to gentamicin in *Streptococcus
faecalis* sub sp *Zymogenes*

J. Antimicrob. Chemother. 1979 ; 76 : 686-689

63- HUGUES J. M. AND JARVIS W.R.

Epidemiology of nosocomial infection .

Manuel of clinical Microbiology.

Fourth edition ; Washington, 1985, pp. 99-104

64- JAFFE A. ; CHABBERT Y.A ; DEMONINO

Role of porine porins Omp F and Omp C in the permeation of
beta-lactam.

Antimicrob. Agents chemother ; 1982, 22 ; 942-948.

65- JARLIER V.

Phenotypes de résistance aux bêta-lactamines.

Description et fréquence, place d'E. cloacae.

Med. Mal. Infect ; 1988, hors serie : 30-40

66- JAZY A.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques de souches urinaires
d'entérobactéries à Niamey (NIGER)

Thèse. Pharm ; Dakar, 1993, n° 74.

67- JIA TAIL ; YEZ ; YUANL ; JIAN. L. ; FANG C. Y.

A .Surveillance study on Penicillin resistant *S. pneumoniae*
in china (abstract 22.005)

68- JONES R. N. ; SADER H. S. ; ERWIN M. E. ; ANDERSON S. C.

Emerging multiply resistant enterococci among clinical isolates :
Prevalence data from 97 medical center surveillance Study in the
Unites states.

Diagn. Microbiol. Infect. Dis. , 1995, 21 (2) : 85 – 93.

69- JUPEAU- VESSIERES A.M ; SCANIZZI M.R

Evolution de la resistance bactérienne aux antibiotiques.

Encycl. Med. Chir. (Paris- France). Maladies infectieuses, 8-006-0-
10, 1994 , 16p.

70- JUPEAU – VESSIERES ET SCAVIZZIM.

Sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

Méthode d'étude en biologie clinique.

Editions techniques EMC (Paris, France)

Mal. Infect. 8005. A30

71- KASSE. C

Sensibilité aux antibiotiques des souches de streptocoques isolées au CHU de Dakar .

Thèse. Pharm. ; Dakar, 1992, n° 94.

72- KENNETH TODAR

Bacteriology 330 lecture topics :

Bacterial resistance to antibiotics 1996

73- KOULLA – SHIRO. S. , ABONG – BWENDT.

Surveillance de la sensibilité in vitro aux antibiotiques de différents pathogènes isolés de prélèvements trachéo-bronchiques, pus chirurgicaux, hémocultures et urines.

Médecine digest, 1995, Suppl. 4, 55, 65.

74- KOUMARE B. et BOUGOUDOGO F.

Résistance aux antibiotiques de 2187 souches bactériennes isolées au Mali entre 1980 et 1991.

Med. Mal. Infect. , 1993 ; 23 : 367 – 9.

75- LAI W. M. ; WONG P. S. ; TSANG D.N.C.

Antimicrobial susceptibility and Serotypes.

Distribution among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Hong-Kong 7th international congress for infections diseases, Hong- Kong, 1996 :48 (abstract 22-002).

76- LAURENT A. ; BERGER J. P.

Evolution des espèces bactériennes et de leur sensibilité aux antibiotiques dans le laboratoire d'un petit hôpital.

~~Revue médicale de la suisse Romaine , 1996 , 116 : 125 – 30~~

~~**77- LAURICHESSE H. ; HENQUELL C. ; MARCUCILLIA ET AL**~~

Epidémiologie des résistances d'Escherichia coli en Auvergne : d'après différentes souches .

Med. Mal. Infect. ; 1994 ; 24, special ; 526-9

78- LE MINOR L. ; VERON N.

Bactériologie médicale , 2^{ème} édition.

Flammarion, Médecine Sciences, Paris, 1989, 333-318, 773-828.

79- LOLOMBANI J.C. ; SIRAJEDDINE K. Et COLOM H.

Bilan des infections nosocomiales dans un service de long séjour d'un centre hospitalier général.

Med. Mal. Infect. ; 1993, 23 : 42-43.

80- LUCH T F. ; BERTHELOT P. ; FRESARD D. A.

Le traitement des infections à Enterocoques .

Méd. Mal. Infect. 1994 ; 24. Spécial : 207-217

**81- LYON. D.J. ; SCHEEL O. ; FUNG K.S.C. ; HENRICHSEN J. ;
CHENG A.F.B**

Increasing prevalence of multiresistant *streptococcus pneumoniae* at Hong-kong teaching hospital In 7th international congress for infections diseases, Hong-kong, 1996 , 172 :(abstract 68- 007).

82- MAINARDI J.L. ; GOLDSTEIN F.W. ; CUTMANN L.

Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques.

Encycl. Med. Chir. (Elvesier, Paris). Maladies infectieuses, 8-006
N-10, 996 8p.

83- MAISONNET M. et VILAIN R.

L'hospitalisme infectieux en chirurgie

Presse Médicale n°6,245-246.

84- MAKI D.G. 1978

Control of colonization and transmission of pathogenic bacteria in the hospital.

Ann. Intern. Med. 89 : 778-780.

85- MALOUIN F. ; BRYAN L. E.

Modification of penicillin binding proteins as mecanismes of beta-lactam resistance .

Antimicrob .Agents chemother ; 1986, 30, 1-S.

86- MALVY D. ; SIRVAIN A. ; BORTEL H.J. ; BRUCKE J. ET AL .

Enquête de prévalence des infections nosocomiales au CHU de Tours .

Med. et Mal. Inf. 1993 ; 23 :607-19.

87- MARRA .M .A

Détermination par E-test de la sensibilité des souches dakaroises de *Staphylococcus aureus*.

Thèse. Pharm. Dakar, 1998, n°46

88- MAURIN M. ;MUSO D. ; CHARREL R. ; PEREZ R., N'GUYEN A. ; DUMON A. ; MICCO . PH

Résistance aux antibiotiques des bactéries hospitalières (bacilles à Gram négatif aerobia) . Situation en 1992 à Marseille.

Med. Mal. Infect. , 1995 ; 25 ; 508 – 14.

89- MAY T ; CANTON P.

Glycopeptides

Encycl. Med. Chir. (Paris- France), Maladies infectieuses, 8-004-4-10, 1994-4p.

90- MBOUP E. H. M.

Sensibilité des bacilles à Gram négatif au C.H.U. de FANN, Dakar.

Thèse. Pharm ; Dakar, 1996, n°75

91- MEYER A. ; DEIANA J. ; LECLERC H.

Les agents antimicrobiens . In : cours de microbiologie générale.

3^{ème} Ed. Paris : Doin, 1991 : 201-40.

92- MINARDI J. L. ; GOLDTEIN F. W. ; CUTMANN L.

Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques.

Encycl. Med. Chir. (Elsevier. Paris),

Mal. Infect, 8-006 N – 10, 996. 8 p

93- MIQUEL L. ; BLAISE D. ; STOPPA A. M. ; MARANINCHI D.

Sensibilité aux antibiotiques dont l'acide fusidique de 1475 souches de staphylocoques isolées dans un institut de cancérologie en 1989 et 1990.

Med. Mal. Infect. 1992 ; 22 : 855-8.

94- MOINAR D.

Examen cyto bactériologique des urines .

In Bactériologie Médicale, Techniques usuelles

Ed siemp, Paris , 53-58.

95- MOITTIE D.

Les phénotypes de resistance des bactéries aux antibiotiques.

Option Biologie.

96- NDIAYE ND . F.

Phénotype de résistance et de virulence des différentes souches de staphylocoques isolées au chu de Dakar.

Thèse. Pharm , Dakar , 1993 ,n° 50.

97- NDIAYE Y. K.

Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques et de la résistance par sécrétion de bêta-lactamases à spectre élargi des souches de bacilles à Gram négatif isolées au C.H.U de Dakar.

Th. Pharm, Dakar, 1992, n°25.

98- NDOYE B. ; HUGARD L.

Septicémies nosocomiales à Enterobactéries multi-résistantes
Aux antibiotiques.

A propos de 32 cas survenus en 2 mois dans le service de
pédiatrie de l'hôpital principal de Dakar.

Médecine. Tropicale. 1995 ; 4, 55, 354-356.

99- NIKAJDO H. ; VAARA M.

Molecular basis of bacterial outer membrane permeability

Microbiol. Rev ; 1985, 49, 1-3.

100- ODUGBEMI T. ; ANIMASHAUN. T. ; KESAH K.

Une étude de la sensibilité antimicrobienne in vitro d'isolats
bactériens cliniques à Lagos , Nigéria.

Med. Digest, 1995, Suppl. 4, 39 – 54.

101- PARISI J.I.

Coagulase négatif, staphylococci and the epidemiological typing of
S. epidermidis

Microbiol. Rev, 1985, 49, 126,-139.

102- PHILLIPON A. ; ARLET. G. ; LAGRANGE PH

Fréquence de résistance et évolution à divers antibiotiques urinaires dont la fosfomycine en milieu hospitalier (11816 souches, 1991 – 1995).

Med. Mal. Infect. 1996, 26 : 539 – 41.

103- PHILLIPON A. ; PAUL G. ; NEVOT P.

Béta-lactamases : incidences et intérêt clinique.

Rean. Soins intens. Med. Urg. ; 1987, 3 : 229-237.

104- PIDDOCK L.J.V ; WISE R.

Newer mechanisms of resistance to bêta-lactam antibiotics in Gram négative bacteria.

J. Antimicrob. Chemother ; 1985, 16, 279-284.

105- PINCHON T. M. ; EMERIQUE P. ; DEMANGE C.

Consommation d'antibiotiques et profil de sensibilité de quelques micro-organismes dans un centre hospitalier général .

Med. Mal. Infect., 1993. , 23 : 360 - 6

106- PREVOST G. ; JARELHAC B. ; PIEMONT Y.

DNA finger printing by pulsed. Field gel electrophoresis more effective than ribotyping in distingwishing amond methicillin resistant *staphylococcus aureus* isolates.

J. clin. Microbiol, 1992, 30 (4) : 967-973.

107- RAHAL R.

Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes isolées de prélèvements divers : résultats à propos de 111 isolats.

Med. Digest, 1995, Suppl – 4, 8 – 17

108- RICHMOND M.H, et SYKES .R. B. in Rose A.H. et TEMPEST O.W. (Ed).

Advances in microbiol physiology.

Academic press, 1973, 9 :31-88.

109- ROBERT- DERNUET S.

Antibiotiques et antibiogramme.

Paris- Montréal, Vigot Decarie, 1995, 322 p .

**110- SANDERS C.C. ; SANDER Jr W.E. ; GOERING R.V ;
WERNER V.**

Selection of multiple antibiotic resistance by quinolones, bêta-lactams and aminoglycosides with spécial refernce to cross resistance between unrelated drug classes.

Antimicrob. Agents. Chemother, 1984, 26, 797-801.

**111- SCHEFTEL J. M. ; WEBER M. ET LE GROUPE FRANÇAIS
« VSI »**

Résistance à 16 antibiotiques de 3876 bacilles à Gram négatif
aerobies isolées dans 39 centres de soins intensifs en France
(1991).

Med. Mal. Infect, 1994 ; 24 : 255 – 62.

112- SIROT J

« Résistance enzymatique des bacilles à Gram négatif aux
céphalosporines de 3^{ème} génération. »

Med. Mal. Infect ; 1989, hors série, octobre : 24-30.

113- SMITH P. B.

Bactériophage typing of staphylococcus aureus.

In J. O. Cohen Ed the sthaphylococci.

Wiley Interscience, New York , pp. 431-441

114 - SMITH P. B.

Biotyping its value as an epidemiologic tool.

Clin. Microbiol. Newsly, 1983, 5 : 165-166.

115- SOUMARÉ Y. R.

Profil antibiotique des bactéries isolées au laboratoire de
Bactériologie du C.H.U de FANN (Etude sur deux ans : 1987 –
1988).

Thèse. Pharm ; Dakar, 1989, n° 74

116- SPRATT B. G.

Penicillin binding proteins and the future of beta-lactam antibiotics.

J. Gen. Microbiol ; 1983, 129, 1247, -1260.

117- STOSOR V ; NOSKIN G. A ; PETERSON L. R.

The management and Prevention of Vancomycin resistant Enterococci.

Infect. Med. 1996 ; 13 (6) : 487-488, 493-498.

118- SY K. R.

Souches bactériennes et résistance aux antibiotiques.

Thèse. Pharm ; Dakar, 1996, n° 55.

119- THABAUT A. ; AVRIL J. L. BEBEAR C. ; BERGOGNE E. ET AL

Evolution de la sensibilité des bacilles à Gram négatif à la ceftazidime et à trois autres bêta-lactamines en milieu hospitalier de 1989 en 1993.

Med. Mal. Infect., 1995, 25, spécial : 6 - 19

120- TIDJANI A.

Antibiothérapie dans les infections nosocomiales en gynécologie obstétrique .

Thèse. Pharm, Dakar, 1998, n° 61.

121- TOURE A.

Etude prospective des souches de Staphylocoques à coagulases négatives isolées au C.H.U. de Dakar

- Sensibilité aux antibiotiques
- Phénotype de résistance aux bêta-lactamines.

Thèse. Pharm, Dakar, 1992, n°93.

122- TOURE ND . C.

Etude des marqueurs épidémiologiques des souches de Klesielles à l'origine de septicémies et de méningites dans deux services de néonatalogie du CHU de Dakar.

Thèse. Pharm ; Dakar, 1989, n° 16.

123- TRAORE H.

Sérogroupe et étude de la sensibilité aux antibiotiques des streptocoques hémolytiques isolés au C.H.U de dakar (Etude portant sur 117 souches).

Thèse. Pharm, Dakar. 1983, n°47

124- TRIPODI M. F. ; RAMBALDI A. ; ROSARIO P. ; ATTANASIO V. ; LOCATELLI A. ; ADINOLFI L. E. ; ANDREANA A. ; FLORIO A. ; RUGGIERO G.

Resistance to aminoglycoside and other antibiotics among clinical isolates of Enterococcus Spp.

New Microbiol . 1995 ; 18 (3) : 319 – 323.

125- VELDHUIJZEN I. ; BRONZWAER S. ; DEGENER J. ; KOOL J.

Données européennes sur la résistance grace à European Antimicrobiol.

Résistance surveillance system (EARSS)

Exemple des bactériémies à Staphylococcus aureus.

Med. Mal. Infect ; 2000 ; 30, suppl. (3) : S 145 – 240.

126- VERDEIL X. ; BERTRAND M. A. ; ROCHE. R. N. ; LARENG

ANNEXE v : Profil de Sensibilité des souches d'Enterocoques isolées d'urines

Code	Nom Antib.	S<=	R>=	Nombre isolats	Résultats						GEM	
					R	S	S	M	M	M	MEAN	RANGE
AMP	AMPICILLIN	S<=8	R>=16	3	0	0	100	1.5	3	1.89	1.5-3	
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	3	0	0	100	.75	1	0.72	.5-1	
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	3	67	33	0	256	256	40.32	1-256	
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	3	33	33	33	6	16	7.27	4-16	
FUR	NITROFURANTOIN	S<=32	R>=128	3	33	33	33	48	256	66.56	24-256	
RIF	RIFAMPIN	S<=1	R>=4	3	33	67	0	3	12	3.78	1.5-12	
STR	STREPTOMYCIN			3	0	0	0	256	256	256.00	256-256	
TET	TETRACYCLINE	S<=4	R>=16	3	100	0	0	256	256	184.61	96-256	
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	3	0	0	100	3	4	2.88	2-4	
GEH	GENTAMICIN (HIG	S<=500	R>=501	3	0	0	100	12	16	10.48	6-16	
STH	STREPTOMYCIN (H	S<=1000	R>=1001	3	67	0	33	1024	1024	586.09	192-1024	

Annexe VI: Profil de Sensibilité de souches de Staphylococcus aureus isolées d'Hémocultures

Code	Nom ATB	Val. critiques		Nombre					GEOM		
				Isolats	SR	ST	SS	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	23	91	0	9	1.5	128	3.37	.094-256
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	20	5	0	95	1	1	1.06	.5-32
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	23	4	0	96	.19	.5	0.29	.094-256
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	23	13	9	78	.125	8	0.31	.047-256
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	23	4	0	96	.5	1	0.54	.19-12
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	23	9	0	91	.38	.75	0.56	.25-32
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	23	0	0	100	1	2	1.34	1-2
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	23	9	0	91	.016	.38	0.04	.016-4
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	23	35	0	65	.125	32	0.84	.094-32
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	23	13	17	70	1	16	1.57	.125-256

ANNEXE VII : Profil de Sensibilité des souches Enterocoques isolées d'Hémocultures

Code	Nom	S	R	Nombre Isolés	R	S	MIC50	MIC90	GEOM MEAN	RANGE	
AMP	AMPICILLIN	S<=8	R>=16	3	0	33	67	2	12	3.63	2-12
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	3	0	100	0	2	3	2.29	2-3
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	3	33	67	0	6	256	10.48	.75-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	3	67	33	0	256	256	80.63	8-256
FUR	NITROFURANTOIN	S<=32	R>=128	3	0	0	100	16	16	14.54	12-16
RIF	RIFAMPIN	S<=1	R>=4	3	33	33	33	2	32	4.00	1-32
STR	STREPTOMYCIN			3	0	0	0	256	256	256.00	256-256
TET	TETRACYCLINE	S<=4	R>=16	3	100	0	0	256	256	256.00	256-256
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	3	0	0	100	4	4	2.88	1.5-4
GEH	GENTAMICIN (HIG	S<=500	R>=501	3	67	0	33	1024	1024	203.19	8-1024
STH	STREPTOMYCIN (H	S<=1000	R>=1001	3	100	0	0	1024	1024	1024.00	1024-1024

Annexe VIII: Profil de Sensibilité de souches de Staphylococcus aureus isolées de Pus

Code	Nom ATB	Val. critiques		Nombre					GOM		
				Isolats	R	SI	S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	86	93	1	6	1	24	1.85	.031-256
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	69	9	0	91	1	3	1.18	.38-24
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	86	5	2	93	.19	1.5	0.30	.016-64
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	86	3	13	84	.125	3	0.21	.031-256
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	86	16	0	84	.5	48	1.06	.19-256
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	86	0	2	98	.38	.75	0.37	.094-2
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	86	0	1	99	2	2	1.77	1-8
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	86	3	0	97	.016	.094	0.03	.016-24
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	86	48	0	52	2	32	1.79	.064-32
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	86	2	10	87	1	3	1.00	.125-32

ANNEXE X : Sensibilité des souches urinaires *Escherichia coli* isolées de malades hospitalisés

Code A/B	Nom A/B	Valeurs critiques		Nombre Isolats	R	S	U	MIC50	MIC90	GEOM MEAN	RANGE
AMX	AMOXICILLIN			13	0	0	0	256	256	37.40	1.5-256
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=8	R>=32	13	0	46	54	8	16	7.01	1-16
KEF	CEPHALOTHIN	S<=8	R>=32	13	54	31	15	32	256	45.87	3-256
FTX	CEFOTAXIME	S<=8	R>=64	13	0	0	100	.064	.125	0.07	.023-.25
FOX	CEFOXITIN	S<=8	R>=32	13	0	0	100	3	4	2.77	1-8
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	13	8	0	92	.5	1	0.58	.19-48
AMK	AMIKACIN	S<=16	R>=64	13	0	0	100	1.5	2	1.46	1-3
PIP	PIPERACILLIN	S<=16	R>=128	13	23	15	62	16	256	9.99	.75-256
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	13	8	0	92	.016	.032	0.03	.004-32
NAL	NALIDIXIC ACID	S<=16	R>=32	13	8	0	92	12	16	10.64	2-256
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	13	54	0	46	32	32	2.16	.047-32

ANNEXE XI : Sensibilité des souches urinaires de *Klebsiella pneumoniae* isolées de malades hospitalisés

Code ATB	Nom ATB	Valeurs critiques		Nombre Isolats	R	SI	%S	MIC50	MIC90	GEOM MEAN	RANGE
AMX	AMOXICILLIN			15	0	0	0	256	256	239.80	96-256
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=8	R>=32	15	7	27	67	3	24	5.81	2-64
KEF	CEPHALOTHIN	S<=8	R>=32	15	33	13	53	8	256	19.03	4-256
FTX	CEFOTAXIME	S<=8	R>=64	15	0	7	93	.094	1	0.16	.047-32
FOX	CEFOXITIN	S<=8	R>=32	15	20	0	80	3	96	6.48	1.5-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	15	0	7	93	1	1.5	0.71	.094-12
AMK	AMIKACIN	S<=16	R>=64	15	0	0	100	2	2	1.70	.75-2
PIP	PIPERACILLIN	S<=16	R>=128	15	40	13	47	24	256	41.28	4-256
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	15	7	0	93	.047	.75	0.07	.012-32
NAL	NALIDIXIC ACID	S<=16	R>=32	14	36	0	64	8	256	18.12	3-256
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	15	53	0	47	32	32	3.55	.19-32

ANNEXE XII : Profil de Sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées d'urines de malades hospitalisés

Code ATB	Nom ATB	Valeurs S/R (titres)		Nombre Total				GEOM			
		S<=	R>=	S	R	S	R	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AMK	AMIKACIN	S<=16	R>=64	8	0	13	88	6	24	7.18	4-24
ATM	AZTREONAM	S<=8	R>=32	7	0	43	57	4	16	6.67	4-16
FEP	CEFEPIME	S<=8	R>=32	7	0	14	86	3	12	4.57	2-12
CAZ	CEFTAZIDIME	S<=8	R>=32	8	13	0	88	3	32	3.34	.75-32
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	8	0	0	100	.38	1	0.37	.094-1
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	8	13	38	50	4	256	7.95	3-256
IMP	IMIPENEM	S<=4	R>=16	7	43	0	57	3	32	8.27	3-32
PIP	PIPERACILLIN	S<=64	R>=128	8	25	0	75	12	256	25.41	6-256
TIC	TICARCILLIN	S<=64	R>=128	8	25	0	75	32	256	42.74	8-256
TIM	TICARCILLIN/CLA	S<=64	R>=128	8	50	13	38	96	256	100.17	16-256

ANNEXE XIII : Profil de Sensibilité des souches d'*Escherichia coli* isolées d'Hémocultures

Code ATB	Nom ATB	Valeurs		Nombre Isolats	R				MIC		GOM	
		S<=8	R>=32		8	16	32	50	90	MEAN	RANGE	
AMX	AMOXICILLIN			12	0	0	0	256	256	256.00	256-256	
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=8	R>=32	12	8	42	50	12	16	10.48	3-256	
KEF	CEPHALOTHIN	S<=8	R>=32	12	83	8	8	256	256	99.19	8-256	
FTX	CEFOTAXIME	S<=8	R>=64	12	8	0	92	.064	.38	0.14	.023-256	
FOX	CEFOXITIN	S<=8	R>=32	12	8	0	92	2	8	3.43	1.5-256	
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	11	9	0	91	1	2	1.06	.19-48	
AMK	AMIKACIN	S<=16	R>=64	12	0	0	100	1.5	2	1.71	1.5-3	
PIP	PIPERACILLIN	S<=16	R>=128	11	73	9	18	256	256	132.81	16-256	
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	12	8	0	92	.023	.19	0.04	.012-32	
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	11	91	0	9	32	32	18.19	.064-32	

ANNEXE XIV : Profil de Sensibilité des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées d'Hémocultures

Code ATB	Nom ATB	Valeurs critiques		Nombre Isolats				GEOM.			
		S<=8	R>=32	R	S	S	S	MLC50	MLC90	MEAN	RANGE
AMX	AMOXICILLIN			27	0	0	0	256	256	220.41	24-256
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=8	R>=32	26	31	27	42	16	256	17.57	2-256
KEF	CEPHALOTHIN	S<=8	R>=32	27	81	0	19	256	256	125.30	3-256
FTX	CEFOTAXIME	S<=8	R>=64	26	15	42	42	12	128	6.93	.064-256
FOX	CEFOXITIN	S<=8	R>=32	27	19	0	81	4	256	7.64	3-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	27	70	4	26	32	128	13.53	.125-256
AMK	AMIKACIN	S<=16	R>=64	27	0	7	93	4	16	3.61	.75-32
PIP	PIPERACILLIN	S<=16	R>=128	27	74	11	15	256	256	106.74	1.5-256
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	27	0	0	100	.032	.094	0.04	.023-.25
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	27	74	0	26	32	32	8.68	.094-32

ANNEXE XV : Profil de Sensibilité des souches d'*Escherichia coli* isolées de Pus de malades hospitalisés

Code	Nom	valeurs		Nombre				GEOM			
ATB	ATB	S<=	R>=	Isolats	R	RI	S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AMX	AMOXICILLIN			35	0	0	0	256	256	64.12	.5-256
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=8	R>=32	35	9	31	60	8	24	8.74	3-64
KEF	CEPHALOTHIN	S<=8	R>=32	35	54	31	14	32	256	41.07	.75-256
FTX	CEFOTAXIME	S<=8	R>=64	35	3	3	94	.094	.5	0.13	.016-256
FOX	CEFOXITIN	S<=8	R>=32	35	6	3	91	2	8	3.14	1-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	34	9	0	91	1	3	1.27	.047-256
AMK	AMIKACIN	S<=16	R>=64	35	0	0	100	2	2	1.75	.75-6
PIP	PIPERACILLIN	S<=16	R>=128	34	59	6	35	256	256	36.87	.38-256
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	35	3	0	97	.023	.125	0.03	.006-32
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	34	44	0	56	.5	32	1.64	.031-32

ANNEXE XVI : : Profil de Sensibilité des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de Pus de malades hospitalisés

Code	Nom	Valeurs		Nombre						GEOM	
ATB	ATB	S<=8	R>=32	Isolats	R	S	S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AMX	AMOXICILLIN			14	0	0	0	256	256	148.50	.5-256
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=8	R>=32	13	15	31	54	4	96	8.86	2-256
KEF	CEPHALOTHIN	S<=8	R>=32	14	50	14	36	32	256	23.21	.75-256
FTX	CEFOTAXIME	S<=8	R>=64	13	8	8	85	.094	16	0.42	.047-256
FOX	CEFOXITIN	S<=8	R>=32	14	7	0	93	3	8	4.44	1-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	14	21	0	79	.75	32	1.48	.25-256
AMK	AMIKACIN	S<=16	R>=64	14	0	7	93	1.5	3	2.13	1-24
PIP	PIPERACILLIN	S<=16	R>=128	14	50	29	21	256	256	53.44	.38-256
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	14	14	0	86	.047	32	0.13	.031-32
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	14	57	0	43	32	32	3.88	.023-32

SERMENT DE GALIEN



Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'Honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;

D'Exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

~~Que je sois couvert~~ d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.