

UNIVERSITE CHEICK ANTA DIOP DE DAKAR (UCAD)

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTOLOGIE

Année 2013-2014



Mémoire N° :242

**Profil de sensibilité des bactéries isolées des infections des sites opératoires
(ISO) dans le service de chirurgie pédiatrique du CHUP – CDG de
Ouagadougou entre Janvier 2010 et Décembre 2012.**

MEMOIRE

Master de Microbiologie Fondamentale et Appliquée

Présenté et soutenu publiquement par :

Issa TONDE

Le 30 Décembre 2014

Jury

Président:	Mr Cheikh Saad Bouh BOYE	Professeur
Membres:	Mme Ndèye Coumba TOURE – KANE	Professeur
	Mme Halimatou Diop – Ndiaye	Maître de Conférence Agrégé
Directrice de mémoire :		
	Mme Rasmata OUEDRAOGO – TRAORE	Professeur

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

Pour cette occasion particulière, je tiens à témoigner ma gratitude :

*A mes parents **TONDE Alassane, KOANDA Maïmouna**, mes oncles particulièrement, **CONGO Souleymane, CONGO Tasséré**, mes frères, mes cousins. Loin de vous, j'ai toujours bénéficié de votre soutien et de vos bénédictions jusqu'à l'aboutissement de cette formation.*

*A nos Maîtres du Master de Microbiologie Fondamentale et Appliquée, en particulier le Professeur **Cheikh Saad Bouh BOYE, Professeur TOURE – KANE Coumba, Docteur Abdoulaye SECK.***

*A tout le personnel du laboratoire CHUP-CDG en particulier le Professeur **OUEDRAOGO – TRAORE Rasmata, Professeur KAFANDO Eléonore, Docteur BARRY, Major BATAKO Philippe, Bansé Kassoum, TAMBOURA Adama, Kambiré Dinanibè.***

*A mes aînés Docteur **Zida ADAMA, Docteur Omar HAROUNA**, pour vos conseils vos contributions pour notre formation et à l'élaboration de ce document.*

*Aux internes des Hôpitaux du Burkina Faso en particulier, **Ousmane TRAORE, Issoufou NEBIE, Hamidou SAVADOGO, Moumouni BANDE.***

*A tout le personnel du laboratoire de Bactériologie Virologie de Centre Hospitalier Universitaire Aristide le DANTEC, en particulier **Professeur Souleymane Mboup, Professeur TOURE – KANE Coumba, Professeur Halimatou Diop / Ndiaye**, les assistants, doctorants, stagiaires et autres personnels de l'unité de Biologie Moléculaire.*

*A mes promotionnaires du Master en particulier mes binômes lors des exposés, **Fatoumata TOURE, Aïssatou NIANG, Oumar NDIAYE, Mathias MBALET.***

*A mon colocataire **Julien Dembélé** et à tous mes amis du Sénégal, je ne peux citer les noms, car vous êtes nombreux.*

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ma formation et à la réalisation du présent travail, je vous dis merci.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTRICE DE MEMOIRE

Professeur OUEDRAOGO – TRAORE Rasmata

Vous avez toujours été un enseignant de référence pour nous durant notre formation en pharmacie. Vous imposez l'admiration et le respect à vos étudiants parce que vous nous avez toujours soutenus et défendus. Ce soutien, nous en avons bénéficié pendant notre stage de 6^{me} année en pharmacie, d'internat des hôpitaux au laboratoire d'analyse médical du CHUP – CDG et pour cette formation en Master. Merci Professeur et trouvez dans ces mots l'expression de notre profonde gratitude. Que Dieu vous guide et vous bénisse.

A NOS MAITRES ET JUGES

Professeur Cheikh Saad Bouh BOYE

Merci cher Professeur pour le temps que vous nous accordez en acceptant de présider ce jury. Votre esprit d'ouverture et votre disponibilité vis-à-vis de vos étudiants font de vous une personnalité exceptionnelle. La pertinence de vos analyses scientifiques ainsi que votre réputation feront sans doute de ce travail un document fiable. Veuillez trouver dans ces mots l'expression de notre sincère admiration. Que Dieu vous guide et vous bénisse.

Professeur Ndèye Coumba TOURE – KANE

Cher professeur, vous n'avez ménagé aucun effort pour siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations. Cela ne nous surprend guère car vous avez toujours été ouverte à tous et nous l'avons constaté et bénéficié depuis notre arrivée dans votre unité. Votre présence dans ce jury donnera certainement de la crédibilité à ce document vue la pertinence de vos critiques scientifiques, la qualité et la clarté de vos enseignements. Veuillez trouver dans ces mots Professeur l'expression de notre profonde gratitude. Que Dieu vous guide et vous bénisse.

Professeur Agrégée Halimatou Diop – Ndiaye

Cher maître merci d'avoir accepté sans réserve de siéger dans ce jury malgré notre sollicitation tardive. Cela témoigne de votre gentillesse votre dévouement pour tous. Vos contributions apporteront sans doute de la qualité à ce document vue la perspicacité de votre esprit scientifique. Nous vous souhaitons du succès à cette belle carrière que vous avez entamée. Que Dieu vous guide et vous bénisse.

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS	vi
LISTE DES TABLEAUX	vii
LISTE DES FIGURES	viii
INTRODUCTION	2
REVUE DE LA LITTERATURE	
I. ECOLOGIE BACTERIENNE DES ISO.....	4
1.1 Nature des pus des ISO.....	4
1.2 Ecologie bactérienne en fonction de la localisation de l'ISO.....	4
II. RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES	5
2.1 Historique et situation épidémiologique de la résistance bactérienne aux antibiotiques	5
2.2 Staphylocoques	6
2.2.1 Résistance aux bêtalactamines	6
2.2.2 Résistance aux aminosides	8
2.2.3 Résistance aux macrolides, lincosamines, streptogramines (MLS).....	9
2.2.4 Résistance aux glycopeptides	10
2.3 Entérobactéries.....	10
OBJECTIFS	
I. OBJECTIF GENERAL.....	14
II. OBJECTIFS SPECIFIQUES	14
APPROCHE METHODOLOGIQUE	
I. TYPE ET CADRE D'ETUDE.....	16
II. METHODE D'ETUDE.....	16
2.1 Démarche de diagnostic bactériologique.....	16
2.2 Méthode d'exploitation des données	15
RESULTATS	
I. REPARTITION DES PRELEVEMENTS.....	24
II. PROFIL BACTERIOLOGIQUE DES GERMES ISOLES	24
III. PROFIL DE SENSIBILITE DES GERMES AUX ANTIBIOTIQUES	25
3.1 Profil de sensibilité et phénotypes de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques. 25	25
3.2 Profil de sensibilité de <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques	29
3.3 Profil de sensibilité de <i>Klebsiella sp.</i> aux antibiotiques	31
3.4 Profil de sensibilité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
3.5 Liste des antibiotiques actifs sur les germes isolés	35

DISCUSSION.....	38
CONCLUSION.....	45
REFERENCES.....	47
ANNEXES.....	50

ABREVIATIONS

Ac. clav :	Acide clavulanique
BCC :	Bouillon Cœur Cervele
BCP :	Bromo Crésol Pourpre
BLSE :	Bêtalactamase à spectre élargi.
BMR :	Bactéries multi-résistantes
CHUP-CDG :	Centre Hospitalier Universitaire Charles de Gaulle de Ouagadougou.
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
CMIT :	Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales
CTX-M :	Cefotaximase-Munich
GC + PVX :	Gélose Chocolat + Polyvitex
ISO :	Infections des sites opératoires
Meti-R :	Meticilline-Résistante
MGG :	May Grunwald Giemsa
MLS :	Macrolides, lincosamine, streptogramines
PLP :	Protéines liant les pénicillines
SARM :	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la meticilline
SASM :	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la meticilline
SHV :	Sulphydryl variable
TEM :	Temoneira

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Fréquence des germes isolés des pus et liquides de ponction reçus au laboratoire de biologie médicale du centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle de Ouagadougou entre Janvier 2010 et Décembre 2012.....	24
Tableau II: Sensibilité de <i>Staphylococcus aureus</i> aux bêtalactamines.....	25
Tableau III: Sensibilité de <i>Staphylococcus aureus</i> aux aminosides.....	26
Tableau IV: Sensibilité de <i>Staphylococcus aureus</i> à l'érythromycine, à la lincosamine et à la pristinamycine.	27
Tableau V: Sensibilité de <i>Staphylococcus aureus</i> aux quinolones, cotrimoxazole, à la tétracycline, à la vancomycine.	28
Tableau VI: Sensibilité de <i>Escherichia coli</i> aux bêtalactamines.....	29
Tableau VII: Sensibilité de <i>Escherichia coli</i> aux fluoroquinolones, aminosides, phénicolé, cotrimoxazole.	30
Tableau VIII: Sensibilité de <i>klebsiella sp.</i> aux bêtalactamines.....	31
Tableau IX: Sensibilité de <i>Klebsiella sp.</i> aux fluoroquinolones, aminosides, phénicolé, et au sulfamide et associé.	32
Tableau X: Sensibilité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux bêtalactamines.....	33
Tableau XI: Sensibilité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux fluoroquinolones, aminosides, phénicolé, et au cotrimoxazole.....	34
Tableau XII: Liste des antibiotiques actifs sur <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Tableau XIII: Liste des antibiotiques actifs sur les entérobactéries.....	36
Tableau XIV: Liste des antibiotiques actifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Photos des différents milieux de la galerie minimale d'identification des entérobactéries au laboratoire de biologie médicale..	17
Figure 2: Exemple d'une galerie Api 20E pour l'identification des entérobactéries au laboratoire de biologie médicale.	18
Figure 3: Clé d'identification des Staphylocoques au laboratoire de biologie médicale du CHU-P CDG	19
Figure 5: Pourcentage des SASM et SARM isolés entre 2010 et 2012	26

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les infections des sites opératoires (ISO) occupent la deuxième position des infections nosocomiales (20 %) après les infections du tractus urinaires (30 %) (**E-Pilly, 2008**). *Staphylococcus aureus* est le germe le plus isolé de ses ISO et les souches résistantes à la méticilline (SARM) représentent un défi majeur de santé publique dans de nombreux établissements de soins à travers le monde (**François, D. et al., 2007, Struelens, M.J. et al., 2000**). Ces SARM font partie des indicateurs de surveillance des infections nosocomiales mais ne permettent pas selon certains auteurs, de classer les hôpitaux en fonction de leur niveau d'hygiène (**Natacha, V. et al., 2011**). La situation de ces ISO est de plus en plus critique avec l'augmentation des résistances des bactéries aux antibiotiques et de leur dissémination.

Ces résistances sont dues à la pression des antibiotiques suite aux prescriptions irrationnelles lors des traitements probabilistes en milieu hospitalier et à l'automédication en milieu communautaire. Les gènes de résistance acquis sont ensuite transmis entre les bactéries (**Patrice, C., 2008, Struelens, M.J. , et al., 2000**). La dissémination est plus importante en milieu hospitalier à cause du manu-portage du personnel soignant et au manque d'hygiène en général, augmentant ainsi la prévalence des infections nosocomiales. On a noté au Bénin en 2012 19,1 % d'infections nosocomiales et environ 12 % au Cameroun (**Ahoyo, T. A. et al., 2014, Clotilde, N. et al., 2013, Simeu, C. et al., 1993**). Dans les pays industrialisés, elle touchent environ 5 à 15 % des patients soit 14,1 % en France en 2007 (**Raisin, Réseau REA, 2009**). L'impact de ces infections nosocomiales est important, sur le plan sanitaire comme sur le plan économique. En exemple on peut citer le coût de prise en charge qui est évalué à 35.300 dollars contre normalement 28.800 par patient aux USA et à environ 2100 Dinar tunisien soit environ 600.000 Fcfa en Tunisie (**Ben, R. F et al., 2007a, Robert, J. R. et al., 1999**). Il est donc nécessaire en plus de la lutte contre la transmission croisée des souches, d'étudier l'écologie bactérienne des CHU afin de mieux adapter les antibiothérapies probabilistes.

Les données sur ces infections dans les pays à faible revenu sont rares. C'est pourquoi, la présente étude est une participation à la dynamique mondiale de lutte contre les infections associées aux soins et servira d'élément important de prise en charge des ISO au CHUP-CDG par l'élaboration, d'une liste des bactéries fréquemment isolées des ISO et d'un guide d'antibiothérapies probabilistes en fonction de l'écologie bactérienne.

REVUE DE LA LITTERATURE

I. ECOLOGIE BACTERIENNE DES ISO

1.1 Nature des pus des ISO

L'ISO est définie par la présence de pus franc ou liquide puriforme, ou la présence de micro-organisme associé à des polynucléaires, ou la présence de signes locaux inflammatoires ou de signes d'infection observés lors d'une intervention ou ré-intervention chirurgicale (**E-Pilly, 2008**). Ces infections sont favorisées par certains facteurs de virulence des bactéries comme la protéine A, qui est une adhésine responsable de la colonisation des cellules hôtes par les staphylocoques (**Kwiecinski, J. et al., 2014**). C'est aussi le cas de la leucocidine de Panton et Valentine (LPV) qui est leucotoxique et dermonécrotique responsable des infections nécrosantes suppuratives comme les furoncles, les anthrax, ostéomyélites (**Badarau, A. et al., 2014**). Le pus englobe toutes les suppurations superficielles regroupant le pus des ulcères, furoncles, escarres, et les suppurations profondes regroupant les ostéomyélites, les spondylodiscites, d'origine digestive etc. (**François, D., et al., 2007**). On distingue en fonction de leur localisation trois classes de pus :

- Les pus de classe I qui proviennent de zones normalement stériles comme le cerveau, la bile, les os etc. Pour cette classe de pus, les germes isolés sont considérés comme responsable de l'ISO si le prélèvement est effectué dans les conditions d'asepsies rigoureuses.
- Les pus de classe II proviennent des zones profondes mais communiquant avec la flore commensale. Le pus peut donc être contaminé par la flore commensale c'est le cas des pus de prélèvement d'origine locale.
- Les pus de classe III sont issus de zones périphériques ce qui signifie qu'il est directement contaminé par la flore commensale. C'est le cas des prélèvements cutanés tels que les plaies, les escarres, les morsures, les brûlures etc.

L'interprétation du résultat du pus se fera en fonction de sa localisation, des conditions et mode de prélèvement (seringue, biopsie etc.), et des conditions de transport.

1.2 Ecologie bactérienne en fonction de la localisation de l'ISO

La fréquence des germes isolés des prélèvements de pus sera fonction de la classe de pus concernée. Ainsi, les Staphylocoques sont majoritairement isolés dans les pus de classe I, dans plus de la moitié des cas : *Staphylococcus aureus* dans 40 %, Staphylocoques à coagulase négative dans 10 % des cas. Pour les pus de classe II et de classe III, les bactéries

les plus isolées sont celles provenant de la flore commensale telles que *Escherichia coli*, les entérocoques et *Pseudomonas aeruginosa* (E-Pilly, 2008).

II. RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

2.1 Historique et situation épidémiologique de la résistance bactérienne aux antibiotiques

En 1928, le monde assistait à l'une des plus grandes découvertes du siècle qui a révolutionné la médecine moderne. La pénicilline découverte par le bactériologiste britannique Alexander Fleming, offrait un réel espoir pour l'éradication d'un bon nombre de maladies infectieuses jusque-là non maîtrisées. Cet espoir sera amplifié par la synthèse en grand nombre de dérivés de la pénicilline très actifs sur les bactéries. Cependant, dès l'aube de cette découverte, le risque d'apparition de résistances aux antibactériens de synthèse devenait de plus en plus réel à cause de l'utilisation abusive de ces antibactériens et à des doses souvent insuffisantes par les praticiens dans les années 1950 (Yvon, M-B, 2009). En effet les bactéries pathogènes, pour faire face à l'action des antibiotiques, développent des résistances par divers mécanismes. Les gènes de résistance acquis seront par la suite partagés entre ces bactéries à travers des supports de gènes de résistance comme les plasmides. On assistera alors à une dissémination rapide des pathogènes résistants compromettant énormément l'activité de ces antibiotiques. Ainsi la première pénicillinase TEM-1/2 et SHV-1 découverte dans les années 1960 chez une souche de *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* a très vite diffusé chez d'autres entérobactéries et d'autres espèces telles que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa* (Vincent, C., 2008). Une année plus tard, on observait le phénomène de résistance intrinsèque à la méticilline à l'époque même de l'introduction de celle-ci en thérapeutique (Avril, J. L. et al., 1992).

L'émergence incessante de ces résistances va occasionner la mise sur le marché des céphalosporines à spectre étendu entre les années 1970 et 1980 pour parer aux problèmes liés aux pénicillinases. Ces céphalosporines seront très vite inefficaces à cause de la synthèse par les bactéries de nouvelles enzymes capable de les inactiver. La première bêtalactamase capable d'hydrolyser les céphalosporines à spectre élargi a été décrite en 1985 en Allemagne chez une souche de *Klebsiella pneumoniae* (Bradford, PA. , 2001). Cette bêtalactamase nommée SHV-2 mutant ponctuel de SHV-1, du fait de l'étendue de son spectre aux céphalosporines à spectre élargi va prendre le nom de bêtalactamase à spectre étendu (BLSE).

De nos jours plus de 230 types de BLSE sont décrites à travers le monde, et depuis plus de 20 ans, 90 % des *Staphylococcus aureus* sont résistants à la pénicilline G (Avril, J. L., *et al.*, 1992, Vincent, C., 2008). Le pourcentage des *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) ne fait que croître : de 0,46 % en 1995 ce pourcentage est passé à 8,04 % en 2006 au Canada (Sylvie, Carle, 2009). La vancomycine qui est l'antibiotique utilisé dans ces cas de figure rencontre de plus en plus de résistances chez certaines souches de cocci à Gram positif.

2.2 Staphylocoques

2.2.1 Résistance aux bêtalactamines

Le phénotype sauvage des staphylocoques sont sensibles à tous les bêtalactamines, les autres phénotypes de résistance observés sont des résistances acquises (**Annexe n°1: Tableau a**). Ces résistances sont basées sur plusieurs types de mécanismes (François, J. *et al.*, 2003) décrits :

- La sécrétion d'une pénicillinase
- La résistance à l'oxacilline ou à la méticilline.

2.2.1.1 Sécrétion d'une pénicillinase

Les pénicillinases sont responsables de l'ouverture du cycle bêta-lactame des pénicillines, entraînant leur inactivation. Ces pénicillinases sont extracellulaires, d'origine plasmidique, et inductibles. Elles sont responsables de la résistance aux pénicillines A et G, aux carboxypénicillines et aux uréidopénicillines. Par contre les pénicillinases sont inactives sur les pénicillines M, les céphalosporines, et sont inactivées par les inhibiteurs de pénicillinase à savoir l'acide clavulanique, le sulbactam, le tazobactam (Avril, J. L., *et al.*, 1992).

Les pénicillinases sont détectées lors de la réalisation de l'antibiogramme par un disque de pénicilline G. Une souche sensible se caractérise par un grand diamètre d'inhibition avec une zone fantôme, c'est-à-dire une bordure floue correspondant à une lyse des bactéries (Avril, J. L., *et al.*, 1992). Une souche résistante se caractérise par une augmentation de la CMI (> 0,12 mg/L) et une diminution du diamètre d'inhibition (< 29mm). Cette résistance se traduit par une zone d'inhibition qui présente une bordure nette, avec parfois la présence de colonies « squatters » c'est-à-dire des colonies bien développées, à la périphérie de la zone

d'inhibition. Une résistance à la pénicilline G équivaut à une résistance à la phenoxy-méthyl pénicilline et aux pénicillines hydrolysables (amino-, carboxy-, uéido-pénicillines) (CA-sfm, 2013).

2.2.1.2 Résistance à la meticilline

La résistance à la meticilline est une résistance intrinsèque ou hétérogène, non enzymatique. Elle a été observée pour la première fois en 1961, à l'époque même de l'introduction de la meticilline en thérapeutique (Avril, J. L., *et al.*, 1992). Plusieurs mécanismes peuvent être responsables de cette résistance (François, J., *et al.*, 2003):

a) La modification de la cible :

Cette résistance est due à la production d'une protéine liant les pénicillines (PLP) anormales, le PLP 2a ou PLP2'. Ces PLP2a ont une très faible affinité pour les bêtalactamines qui doivent impérativement se fixer sur ces protéines pour agir. C'est une résistance qui est acquise grâce à l'expression d'un gène chromosomique dénommé gène *mecA* appartenant à un fragment additionnel d'ADN intégré à l'ADN des bactéries productrices. Les souches de *Staphylococcus aureus* ayant acquis une telle résistance sont appelées *Staphylococcus aureus* résistant à la meticilline en abrégé SARM.

b) Hyperproduction de bêtalactamase

Les souches qui ont acquis ce caractère d'hyperproduction de bêtalactamase sont appelées BORSA (Boderline *Staphylococcus aureus*) et ne possèdent pas le gène *mecA*. On peut faire la différence de cette résistance avec les autres en additionnant à l'oxacilline un inhibiteur de bêtalactamase. Dans ces conditions, la sensibilité est restaurée si la résistance est due à une bêtalactamase.

c) Production de meticillinase

La méticillinase est une enzyme qui pourrait être produite par certaines souches ne possédant pas le gène *mecA* pour hydrolyser la meticilline. Le rôle du gène responsable de cette hyperproduction n'est pas clairement établi.

d) *Modification des PLP normales autres que les PLP2a*

Les souches concernées sont dites souches MODSA (Modified *Staphylococcus aureus*). Elles ne produisent pas de bêtalactamases, ne possèdent pas de gène *mecA* mais sont responsables d'une résistance à bas niveau à l'oxacilline par modification de l'affinité de leur PLP normales par rapport aux bêtalactamines.

e) *Recherche de l'expression d'une PLP2a*

La recherche de l'expression d'une PLP2a se fait par un disque de cefoxitine 30µg ou de moxalactam 30 µg dans des conditions standard de l'antibiogramme des staphylocoques. Une résistance se traduit par un diamètre d'inhibition inférieur à 25 mm pour la cefoxitine et 23 mm pour la moxalactam selon le CA-sfm. Une sensibilité se traduit par un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 27 mm pour la cefoxitine et 24 mm pour la moxalactam. L'expression d'une PLP2a par induction aux bêtalactamines ou présence du gène *mecA* devrait être recherchée par une technique beaucoup plus appropriée pour les souches présentant un diamètre d'inhibition compris entre ces deux extrémités. Ainsi toutes les souches de staphylocoques résistantes à la cefoxitine, au moxalactam, ou à l'oxacilline, ou possédant le gène *mecA* ou exprimant la PLP2a après induction par une bêtalactamine, doivent être interprétées comme étant résistantes à tous les bêtalactamines, que ce soient les pénicillines (associées ou non à un inhibiteur de bêtalactamase), les céphalosporines, ou les carbapénèmes sauf la ceftazoline ou la ceftobiprole (CA-sfm, 2013).

2.2.2 Résistance aux aminosides

Le phénotype sauvage des staphylocoques sont naturellement sensibles aux aminosides. Les autres phénotypes sont issus de résistances acquises liées essentiellement à l'acquisition d'enzymes qui les inactivent (**Annexe n°1 : Tableau b**). Ces enzymes sont des aminosides phosphotransférases, les aminosides nucléotidyltransférases et les aminosides acétyltransférases (François, J., *et al.*, 2003).

La recherche du phénotype de résistance des staphylocoques aux aminosides se fait à l'aide d'un tableau qui résume le profil de résistance de chaque phénotype (**Annexe n°1 tableau b**). Les souches résistantes à la gentamycine sont aussi résistantes à la tobramycine et à la kanamycine (phénotype KTG). En pratique les souches résistantes à la gentamycine doivent être considérées comme résistantes à tous les aminosides usuels excepté la streptomycine et la néomycine. Les souches résistantes aux aminosides particulièrement le

phénotype KTG, sont le plus souvent *meti-R* (Avril, J. L., *et al.*, 1992, François, J., *et al.*, 2003).

2.2.3 Résistance aux macrolides, lincosamines, streptogramines (MLS)

Trois principaux mécanismes sont responsables de la résistance aux MLS. Il s'agit de la résistance par modification de la sous unité 50S du ribosome aboutissant à une résistance inductible ou constitutive, de la résistance par inactivation et de la résistance par efflux (François, J., *et al.*, 2003).

2.2.3.1 Résistance par modification de la sous unité 50S du ribosome.

Cette résistance consiste en une diméthylation de l'adénine de la sous unité 23S de l'ARNr. La diméthylation va entraîner une diminution de l'affinité des MLS pour le ribosome par changement de la conformation de l'ARN. Chez les Staphylocoques, différents déterminants génétiques sont responsables de cette résistance. Ce sont le gène *ermA* porté par des transposons et les gènes *ermB* et *ermC* portés par des plasmides (François, J., *et al.*, 2003).

L'expression phénotypique de la résistance peut être inductive ou constitutive. Lorsqu'elle est inductive, on aura une résistance croisée à tous les macrolides à 14 chaînons (érythromycine, roxithromycine, clarythromycine) et 15 chaînons (azithromycine), et une sensibilité des macrolides à 16 chaînons (spiramycine, josamycine et les ketolides). Quand elle est constitutive on assiste à une résistance croisée à tous les macrolides de 14 à 16 chaînons, les lincosamines, les ketolides et les streptogramines (Annexe 1 :Tableau c) (François, J., *et al.*, 2003).

Devant une souche résistante à l'érythromycine, et sensible à la spiramycine, la lincomycine et à la clindamycine, on doit rechercher le caractère inductible de cette résistance c'est-à-dire un antagonisme entre l'érythromycine et la lincomycine. Cette induction est recherchée à l'aide de la méthode par diffusion sur gélose en déposant côte à côte un disque d'érythromycine et un disque de lincomycine dans la boîte d'antibiogramme (Fielbelkorn, K. R. *et al.*, 2003). Une induction se traduit par une diminution du diamètre autour du disque de la lincomycine ou de la clindamycine du côté de l'érythromycine (Nuran, D. *et al.*, 2005).

2.2.3.2 Inactivation de l'antibiotique

Il s'agit d'une inactivation enzymatique. Pour les streptogramines, c'est une acétyltransférase codée par deux gènes *vatA* et *vatB* qui sont responsables de l'acétylation de la fraction A et une hydrolase codée par le gène *vagb* qui inactive la fraction B (**Haroche, Julien et al., 2003**).

Pour la lincomycine et la clindamycine, c'est une acétylation enzymatique qui est responsable de l'inactivation. Elle est exceptionnelle chez les *Staphylococcus aureus* mais détectée chez les staphylocoques à coagulase négative. On peut aussi avoir une inactivation enzymatique de la lincomycine par des nucléotidyltransférases codées par deux gènes plasmidiques *linA* et *linA'* (**François, J., et al., 2003**).

2.2.3.3 Efflux inactif de la molécule

Cet efflux est dû à une élimination de l'antibiotique intracellulaire par une protéine *msrA* codée par le gène *msrA*.

2.2.4 Résistance aux glycopeptides

Décrites en 1981, les résistances aux glycopeptides sont sporadiques chez les staphylocoques à coagulase négative. On rencontre quelques souches intermédiaires à la vancomycine, qui ont aussi une résistance croisée à la teicoplanine. Ces souches sont isolées chez des patients ayant reçu de multiples traitements à la vancomycine.

2.3 Entérobactéries

2.3.1 Classification des entérobactéries en fonction de leur sensibilité naturelle aux bêtalactamines.

Les entérobactéries sont classées en 4 groupes en fonction de leur sensibilité naturelle aux bêtalactamines.

Les groupes de bêtalactamine qui servent à classer les entérobactéries sont :

- Les aminopénicillines, les aminopénicillines + inhibiteurs de bêtalactamases,
- Les carboxypénicillines, les ureidopénicillines,
- Les céphalosporines de première, deuxième et troisième génération, les céphalosporines de troisième génération + inhibiteurs,
- Les carbapénèmes, céphamycines.

Les 04 groupes d'entérobactéries sont :

Groupe 1 : *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella spp.*

Groupe 2 : *Klebsiella spp*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter amalonaticus*.

Groupe 3 : *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Providencia spp.*, *Citrobacter freundii*, *Proteus vulgaris*.

Groupe 4 : *Yersinia enterocolitica*.

2.3.2 Résistance naturelle des entérobactéries aux bêtalactamines

Les bactéries du groupe 1 sont naturellement sensibles à tous les antibiotiques. Elles ne produisent pas de bêtalactamases. Celles du groupe 2 résistent naturellement aux aminopénicillines, carboxypénicillines et aux uréidopénicillines. Une résistance intermédiaire peut être observée avec les uréidopénicillines et les céphalosporines de 1^{re} génération (C1G), mais ces bactéries restent sensibles aux céphalosporines de deuxième et troisième génération (C2G et C3G), aux carbapénèmes et aux céphamycines. Elles sont également sensibles aux inhibiteurs de bêtalactamases. Ces bactéries produisent une pénicillinase de bas niveau responsable de ces résistances (**Annexe n°2 : Tableau a**) (**François, J., et al., 2003**).

Les bactéries du groupe 3 résistent aux aminopénicillines et aux céphalosporines de 1^{re} génération mais restent sensibles aux carboxypénicillines, aux uréidopénicillines, aux C3G, aux carbapénèmes et aux céphamycines. Excepté *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* elles sont toutes résistantes aux inhibiteurs et produisent une céphalosporinase de bas niveau (**François, J., et al., 2003**).

Dans le quatrième groupe les bactéries ne sont sensibles qu'aux C3G et aux carbapénèmes, mais peuvent présenter une résistance intermédiaire aux uréidopénicillines et une sensibilité aux C2G et aux céphamycines. Elles résistent toutes aux inhibiteurs de bêtalactamases. Ce groupe contient des bactéries qui produisent une pénicillinase plus une céphalosporinase (**François, J., et al., 2003**).

2.3.3 Résistance acquise

L'acquisition de caractères nouveaux de résistance par les entérobactéries aux bêtalactamines leur confère plusieurs phénotypes de résistance différents du phénotype sauvage. On peut citer comme phénotypes de résistance acquise (**Annexe n°2 : Tableau b**) :

a) *Les bactéries productrices de pénicillinases :*

Ces pénicillinases sont exprimées soit à bas niveau ou à haut niveau résultant d'une modification du gène de régulation. La production de ces pénicillinases d'origine plasmidique, ne nécessite pas d'inducteur ; elle est constitutive. Ces pénicillinases sont totalement ou partiellement inactivées par les inhibiteurs des bêtalactamases (**François, J., et al., 2003**).

b) *Les bactéries productrices de céphalosporinases :*

Ce sont les céphalosporinases dérprimées ou céphalosporinases de haut niveau issues des céphalosporinases réprimées ou de bas niveau, produites par les souches sauvages suite à une modification des gènes. Ces enzymes d'origine chromosomique ne sont produites qu'en présence d'inducteurs qui sont presque toujours les bêtalactamines. Ces céphalosporinases ne sont pas inactivées par les inhibiteurs de bêtalactamases (**François, J., et al., 2003**).

c) *Les bêtalactamases à spectre élargie :*

Ce sont des pénicillinases qui sont souvent actives sur toutes les bêtalactamines sauf l'imipénème, et partiellement inhibées par les inhibiteurs de bêtalactamases. Cette résistance élargie à toutes les bêtalactamines est due à une mutation des gènes de résistance initiaux parentaux (**François, J., et al., 2003**).

OBJECTIFS

I. OBJECTIF GENERAL

Etudier le profil de sensibilité des bactéries isolées des infections des sites opératoires dans le service de chirurgie pédiatrique du CHUP-CDG de Ouagadougou.

II. OBJECTIFS SPECIFIQUES

- 1- Déterminer la fréquence des germes isolés des pus d'infection des sites opératoires de la chirurgie.
- 2- Déterminer la fréquence de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM).
- 3- Déterminer la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés.
- 4- Elaborer une liste des antibiotiques actifs sur les germes les plus isolés.

APPROCHE METHODOLOGIQUE

I. TYPE ET CADRE D'ETUDE

Cette étude rétrospective a été réalisée au laboratoire d'analyses médicales en collaboration avec le service de chirurgie du CHUP-CDG de Ouagadougou entre Janvier 2010 et Décembre 2012.

II. METHODE D'ETUDE

2.1 Démarche de diagnostic bactériologique

2.1.1 Nature des prélèvements

Les prélèvements sont constitués de pus des infections des sites opératoires obtenus par écouvillonnage, ou aspiration et collectés dans des tubes stériles.

2.1.2 Isolement et identification des germes

L'isolement des germes s'est fait selon les procédures standards établies au laboratoire.

2.1.2.1 Isolement des germes

L'isolement des germes du pus comporte 03 étapes : l'examen macroscopique l'examen microscopique, et la mise en culture.

a) Examen macroscopique

Il a consisté à noter l'aspect (d'ordre purulent verdâtre, hématiche, visqueux etc.) et la couleur voire l'odeur du pus.

b) Examen microscopique

Elle est faite de façon succincte à partir d'un frottis coloré au May Grunwald Giemsa (MGG), pour apprécier la présence de polynucléaires altérés ou non et un frottis coloré au Gram pour déterminer la morphologie et l'affinité tinctoriale au Gram des bactéries présentes.

c) La culture

Les pus ont étéensemencés sur un milieu non sélectif (BCP), ou sur un milieu enrichi (GC+PVX) et dans un bouillon d'enrichissement de type BCC.

2.1.2.2 Identification

L'identification des souches était basée sur les caractères morphologiques, culturels, biochimiques et parfois antigéniques des germes isolés en primoculture.

a) Les entérobactéries

Les bacilles à Gram négatif isolés ont été identifiés sur la base d'une mini galerie constituée d'une mini – galerie (Kliger Hajna, citrate de Simmons, mannitol mobilité, urée – indole) (Cf. Figure 1).

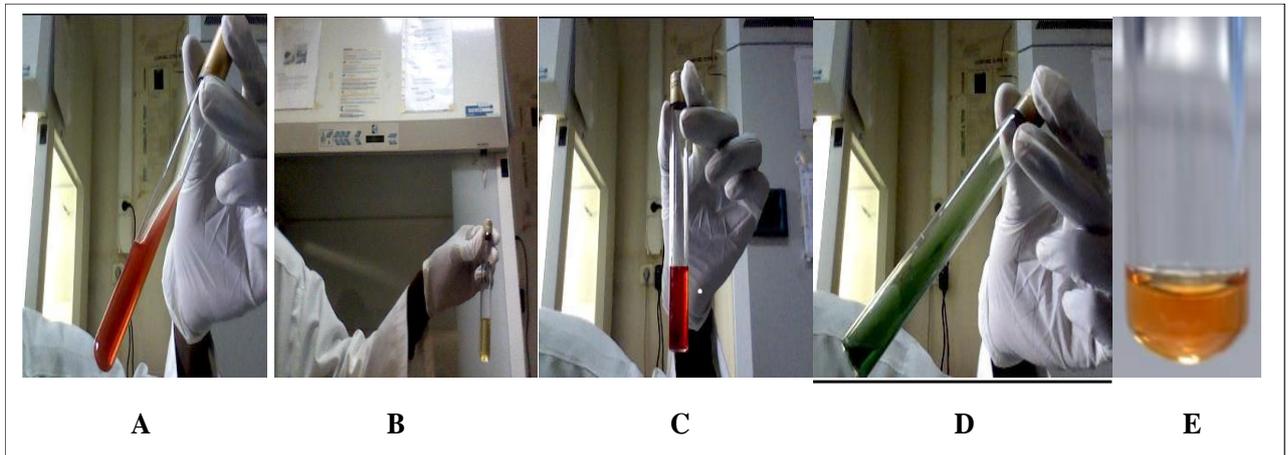


Figure 1: Photos des différents milieux de la galerie minimale d'identification des entérobactéries au laboratoire de biologie médicale. En (A) le Kliger Hajna, en (B) l'eau peptoné, en (C) le mannitol mobilité, en (D) le citrate de Simmons, en (E) l'urée-indole.

Une galerie Api 20E était réalisée pour les enterobactéries qui n'ont pas pu être identifiées par la minigalerie minimale (Cf. Figure 2).

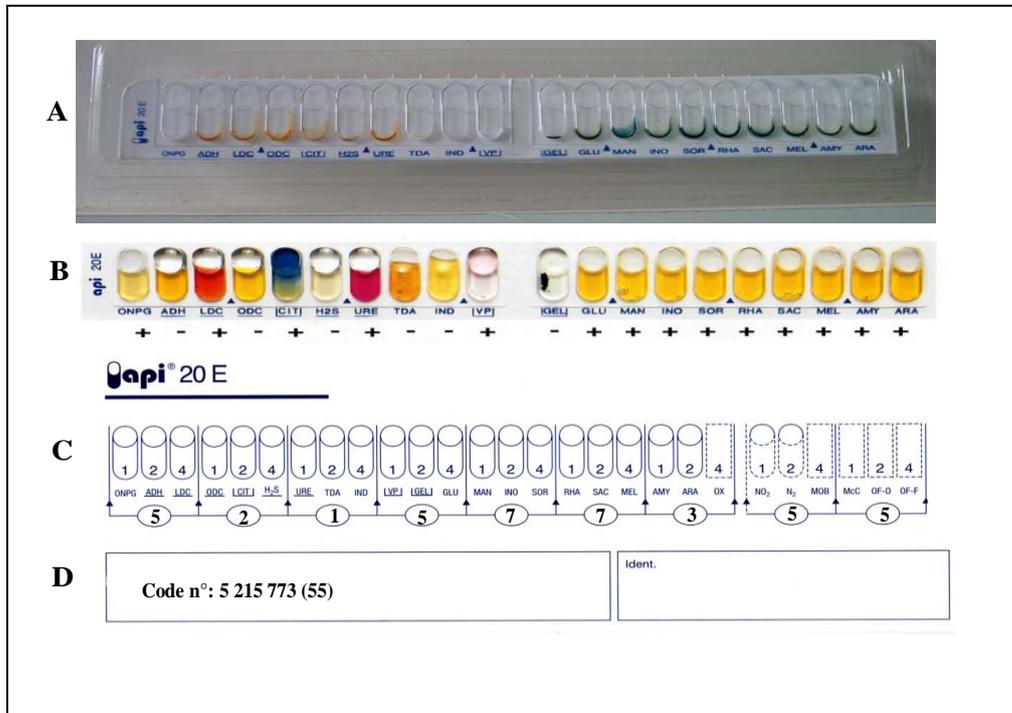


Figure 2: Exemple d'une galerie Api 20E pour l'identification des entérobactéries au laboratoire de biologie médicale. En (A) la galerie non encore ensemencée, en (B) la galerie ensemencée, en (C) la détermination du code du germe en (D) le code du germe.

b) Les staphylocoques

Les cocci à Gram positif ayant une catalase positive, ont été ensemencés sur les milieux, chapman, DNase, pour l'identification des trois espèces de staphylocoques à savoir : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* et *Sataphylococcus epidermidis* selon la clé d'identification cidessous.

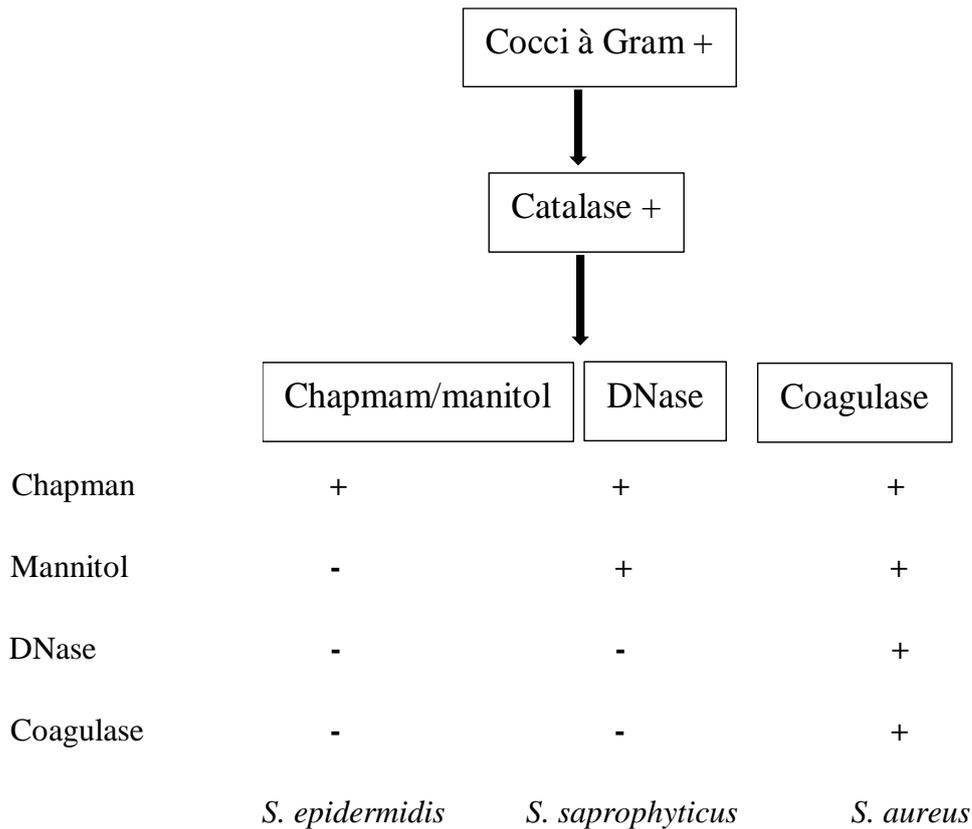


Figure 3: Clé d'identification des Staphylocoques au laboratoire de biologie médicale du CHUP – CDG

c) *Pseudomonas aeruginosa*

Lorsque la mini-galerie révélait la présence d'une bactérie non fermentaire, c'est-à-dire absence de virement de tout le milieu sauf le citrate qui vire au bleu, une galerie non fermentaire était ensemencée pour la recherche de *Pseudomonas aeruginosa*.

2.1.3 La réalisation de l'antibiogramme

Les antibiogrammes ont été réalisés selon les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**CA-sfm, 2013**).

2.1.3.1 Préparation de l'inoculum

Ce sont les colonies de 24 h obtenues après ré-isolément sur milieu approprié qui ont été utilisées pour la préparation de l'inoculum. D'abord une suspension bactérienne à 0,5 McFarland est réalisée avec une solution saline à 0,9% de NaCl. Cette suspension bactérienne est diluée au 1/10^{ème} pour obtenir l'inoculum qui servira pour la réalisation de l'antibiogramme.

NB : Pour les streptocoques il n'y a pas de dilution, c'est la solution de 0,5 McFarland qui est directementensemencée.

2.1.3.2 Ensemencement

L'ensemencement a été effectué par écouvillonnage sur milieu Mueller-Hinton coulé sur une boîte de Pétri en respectant l'épaisseur de 4 mm. Cette méthode consiste à :

- Tremper l'écouvillon stérile dans l'inoculum préparé,
- Eliminer l'excès d'inoculum en pressant l'écouvillon avec le bord du tube contenant ce dernier.
- Sans faire un tiret, ensemenecer en stries serrées sur la boîte de pétri contenant le milieu Mueller-Hinton.
- En tournant d'un angle de 60° la boîte de pétri, on ensemenecer encore en stries serrées, une deuxième fois puis une troisième fois.
- Attendre environ 5 minutes avant le dépôt des disques d'antibiotiques.

NB :

- Pour les streptocoques l'ensemencement s'est fait sur milieu Mueller-Hinton à 5 % de sang de mouton.
- Pour les staphylocoques la recherche de la résistance à la meticilline s'est faite soit sur milieu Mueller-Hinton ordinaire, avec une incubation à 30°C soit sur milieu Mueller-Hinton supplémenté en chlorure de sodium (2 et 4%) et incubé à 37°C quand il s'agit d'utiliser l'oxacilline. Quand il s'agit de la cefoxitine on utilisait le Mueller-Hinton ordinaire sans conditions particulières d'incubation et de supplémentation.

2.1.3.3 Dépôt des disques d'antibiotiques

a) Conservation des disques d'antibiotiques

Les disques d'antibiotiques entamés sont chaque fois conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C, ceux qui ne sont pas entamés sont conservés à – 20 °C. Une fois retirés, les disques sont déposés 1 à 2 heures à la température ambiante du laboratoire. Après le dépôt, ils sont remis immédiatement au réfrigérateur pour qu'ils ne se déchargent pas de leur antibiotique.

b) Choix des disques

Le choix des disques se fait en fonction des différents groupes bactériens. La liste des antibiotiques a été établie sur base des recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française chaque année (ANNEXE 3).

c) Le dépôt

Les disques sont déposés à la surface de la gélose à l'aide d'un distributeur de disques ou manuellement avec une pince stérile. Une fois que le disque est mis en contact avec la gélose il n'est plus déplacé. Une distance de 30 mm est respectée entre deux disques et 15 mm entre un disque et le bord de la boîte de pétri. Au maximum 7 disques sont déposés sur les boîtes de 90 mm de diamètre, et 16 disques sur les boîtes de 120 mm de diamètre. Pour le dépôt manuel, on s'assure à chaque fois que les disques sont bien en contact avec la gélose en appuyant légèrement sur ceux-ci avec la pince stérile.

d) L'incubation

Le milieu Mueller-Hinton ordinaire est incubé à 37 °C pendant 24 heures alors que, le milieu Mueller-Hinton au sang est incubé à 37 °C sous CO₂. Pour les staphylocoques, l'oxacilline déposé sur milieu Mueller-Hinton supplémenté avec 2 à 4 % de chlorure de sodium et incubé à 37 °C pendant 24 heures. Par contre l'oxacilline déposé sur milieu Mueller-Hinton non supplémenté en chlorure de sodium est incubé à 30 °C pendant 24 heures. Dans tous les deux cas un prolongement éventuel de l'incubation jusqu'à 48 heures est fait si la croissance bactérienne apparaît faible en 24 heures.

e) La lecture interprétative de l'antibiogramme

Cette lecture interprétative est basée sur la connaissance du phénotype de résistance des bactéries. Elle se fait selon le référentiel du CA-sfm qui établit les règles de lecture en se basant sur les concentrations et les diamètres critiques des antibiotiques par rapport aux espèces ou aux groupes bactériens.

f) *Contrôle de qualité des disques*

Durant la période concernée par l'étude, la souche de contrôle ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus* et ATCC 25922 de *E. coli* ont été utilisées pour chaque nouveau lot de disques d'antibiotiques.

2.2 Méthode d'exploitation des données

2.2.1 Collecte des données

Les données ont été collectées à partir du registre du laboratoire. Elles concernaient tous les prélèvements de site opératoire des enfants du service de la chirurgie pédiatrique reçus au laboratoire durant la période de janvier 2010 à Décembre 2012. La nature du prélèvement, le ou les germe(s) isolé(s) sur chaque échantillon et les données sur la sensibilité par rapport aux antibiotiques testés ont été répertoriés et saisis sur un fichier Excel.

2.2.2 Analyse des données

Le masque Excel a été importé sur le logiciel Epi info version 3.5.1 et nous avons déterminé :

- Le pourcentage des liquides de ponction par rapport aux pus.
- La fréquence des espèces de bactéries isolées de Janvier 2010 à Décembre 2012.
- Le profil de sensibilité de chaque germe aux antibiotiques testés
- Le pourcentage des SARM à partir de la résistance à la céfoxitine ou à l'oxacilline.

RESULTATS

I. REPARTITION DES PRELEVEMENTS

Au total, 495 prélèvements d'infections de site opératoire provenant du service de la chirurgie pédiatrique ont été reçus au laboratoire d'analyses de Janvier 2010 à Décembre 2012 dont 95% (n= 470) étaient constitués de pus et 5% (n= 25) de liquides de ponction. Sur ces prélèvements, 340 germes ont été isolés sur 348 prélèvements positifs à la culture et 8 prélèvements ont donné au moins 2 germes.

II. PROFIL BACTERIOLOGIQUE DES GERMES ISOLEES

Le tableau suivant donne la fréquence des germes isolés des pus des infections des sites opératoires entre 2010 et 2012.

Tableau I: Fréquence des germes isolés des pus et liquides de ponction reçus au laboratoire de biologie médicale du centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle de Ouagadougou entre Janvier 2010 et Décembre 2012

Germes	Fréquences (n)	Pourcentage (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	114	33,5
<i>Escherichia. coli</i>	91	26,8
<i>Klebsiella sp</i>	38	11,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24	7,1
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	20	5,9
<i>Enterobacter sp</i>	16	4,7
<i>Proteus mirabilis</i>	11	3,2
<i>Streptococcus sp</i>	11	3,2
<i>Salmonella sp</i>	8	2,3
<i>Citrobacter sp</i>	4	1,2
<i>Acinetobacter</i>	1	0,3
<i>Citrobacter frundi</i>	1	0,3
<i>Serratia odorifera</i>	1	0,3
Total	340	100

Parmi les 495 prélèvements reçus au laboratoire, 340 germes regroupés en 13 espèces bactériennes ont été isolées. *Staphylococcus aureus* majoritairement isolé compte 114 espèces soit 33,5%, suivi de *Escherichia coli* qui compte 91 espèces soit 26,8%, de *Klebsiella sp.* qui compte 38 espèces soit 11,2% et *Pseudomonas aeruginosa* qui compte 24 espèces soit 7,1%.

III. PROFIL DE SENSIBILITE DES GERMES AUX ANTIBIOTIQUES

3.1 Profil de sensibilité et phénotypes de résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques.

3.1.1 Profil de sensibilité

a) Bêtalactamines

Le tableau suivant montre le pourcentage de sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux bêtalactamines testées.

Tableau II: Sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux bêtalactamines.

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Sensibilité		
		Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensible (%)
Péni G	79	70,9	00	29,1
Ampicilline	19	73,70	00	26,30
Amoxicilline	10	60	00	40
Amox +AC	57	19,29	1,75	78,95
Cefalotine	34	26,5	2,9	70,60
Cefalexine	12	8,34	00	91,66
Ceftriaxone	73	16,43	1,36	82,21
Céfotaxime	08	00	00	100
*Cefoxitine/Oxacilline	81/33	22	00	78

*L'oxacilline était utilisé en l'absence de la cefoxitine en milieu contenant 2,5% en NaCl selon les recommandations du CA-sfm.

Ces résultats montrent une résistance de 70,9% de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline G, 73,7% à l'ampicilline, et 60% à l'amoxicilline. Au moins 70% de sensibilité s'observe avec l'amoxicilline + acide clavulanique et les C3G.

Sur les 114 souches de *Staphylococcus aureus*, 81 souches ont été testées à la céfoxitine et 33 à l'oxacilline selon les recommandations du CA-sfm. Le pourcentage des

souches résistantes à l'oxacilline ou à la céfoxitine c'est-à-dire les SARM, était égal à 22% (n= 25) (confère diagramme ci-dessous).

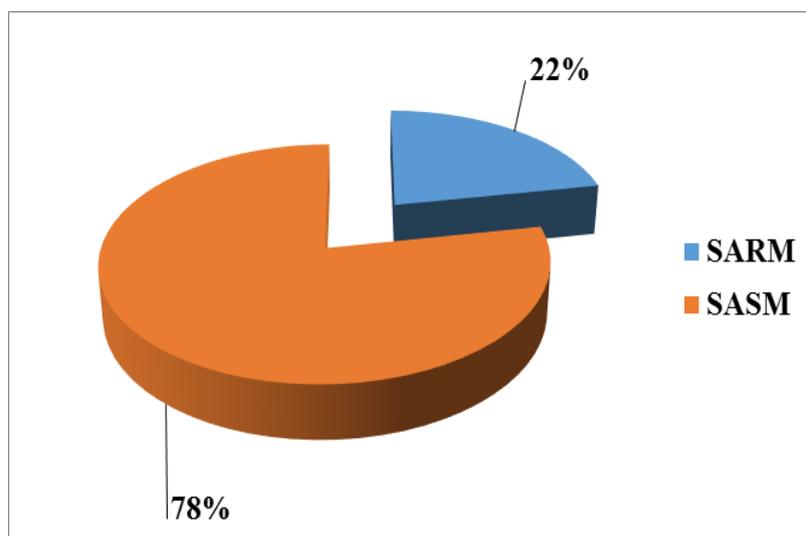


Figure 4: Pourcentage des SASM et SARM isolés entre 2010 et 2012

b) Aminosides

Le tableau suivant montre le pourcentage de sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux aminosides

Tableau III: Sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux aminosides

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Sensibilité	
		Résistance (%)	Sensible (%)
Amikacine/Kanamycine	7/34	2,4	97,6
Gentamycine/Netilmycine	59/30	12,3	87,7

L'amikacine était utilisé en absence de la kanamycine, la nétilmycine en absence de la gentamycine. Ces résultats montrent au moins 87% de sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* aux aminosides.

c) *Macrolides lincosamines et streptogramines (MLS)*

Le tableau suivant montre la sensibilité de *Staphylococcus aureus* à l'érythromycine, à la lincomycine et à la pristinamycine.

Tableau IV: Sensibilité de *Staphylococcus aureus* à l'érythromycine, à la lincosamine et à la pristinamycine.

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Sensibilité	
		Résistance (%)	Sensible (%)
Erythromycine	114	20,66	79,34
Lincomycine	113	8,85	91,15
Pristinamycine	93	6,45	93,55

Les résultats de ce tableau montrent une bonne sensibilité aux macrolides et apparentés. Au moins 79% des souches de *Staphylococcus aureus* étaient sensibles.

d) Autres antibiotiques

Le tableau suivant montre la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux quinolones, au cotrimoxazole, à la tétracycline et à la vancomycine.

Tableau V: Sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux quinolones, cotrimoxazole, à la tétracycline, à la vancomycine.

Classe d'antibiotiques		Nombre de souches testées	Sensibilité		
			Résistance (%)	intermédiaire (%)	Sensibilité (%)
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	32	3,10	0	96,9
	Norfloxacine	4	0	0	100
	Péfloxacine	93	2,15	0	97,85
Sulfamide	Cotrimoxazole	106	4,3	0,6	95,1
Cycline	Tétracycline	15	26,67	0	73,33
Glycopeptide	Vancomycine	32	9,38	0	90,62

Ces résultats montrent une bonne sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux fluoroquinolones, au cotrimoxazole, à la tétracycline et à la vancomycine. Une sensibilité à peu près identique s'observe avec l'ensemble des fluoroquinolones.

3.2 Profil de sensibilité de *Escherichia coli* aux antibiotiques

3.2.1 Bêtalactamines

Le tableau suivant montre la sensibilité de *Escherichia coli* aux bêtalactamines

Tableau VI: Sensibilité de *Escherichia coli* aux bêtalactamines.

Classes	Antibiotiques	Nombre de souches testées	Sensibilité		
			Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensible (%)
Aminopenicillines	Amoxicilline	17	82,35	00	17,65
	Ampicilline	47	93,60	2,15	4,25
Aminopeni + IβL	Amox +AC	24	66,66	16,67	16,67
Carboxypenicilline	Ticarcilline	22	81,80	00	18,20
Ureïdopeni	Pipéracilline	04	75	00	25
Carbapénème	Imipénème	84	2,38	00	97,62
	Cefalotine	29	62,06	10,34	27,6
C1G	Cefalexine	10	90	00	10
C3G	Ceftriaxone	73	72,6	00	27,4
	Cefotaxime	08	75	00	25
C4G	Cefepime	07	28,6	57,12	14,28
Monobactam	Aztreonam	07	71,40	00	28,60

Les résultats de ce tableau montrent une résistance importante à l'ensemble des bêtalactamines sauf l'imipénème. On note au moins 75% de résistance aux aminopénicillines,

aux carboxypénicillines, aux ureïdopénicillines et au moins 70% de résistance aux C3G, et 65% à l'amoxicilline + acide clavulanique.

3.2.2 Autres antibiotiques

Le tableau suivant présente le pourcentage de sensibilité de *Escherichia coli* aux quinolones, aux aminosides, au chloramphénicol et au cotrimoxazole, ainsi que le nombre de souches testées pour chaque antibiotique.

Tableau VII: Sensibilité de *Escherichia coli* aux fluoroquinolones, aminosides, phénicolé, cotrimoxazole.

Classe d'antibiotiques		Nombre de souches testées	Sensibilité		
			Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensibilité (%)
Fluoroquinolones	Ac. Nalidixique	18	88,89	00	11,11
	Ciprofloxacin	76	69,73	00	30,27
	Norfloxacin	30	70	00	30
	Péfloxacin	25	76	00	24
Aminosides	Amikacine	12	16,66	8,34	75
	Gentamicine	36	58,33	2,78	38,89
	Kanamycine	22	59	4,64	36,36
	Netilmycine	29	55,17	10,33	34,5
Phénicolé	Chloramphénicol	41	29,26	4,89	65,85
Sulfamide et associé	Cotrimoxazole	66	86,36	00	13,64
Cycline	Tétracycline	4	50	00	50

Ces résultats montrent qu'appart l'amikacine, le chloramphénicol, et la tetracycline, *E. coli* a été résistant aux autres antibiotiques testés.

3.3 Profil de sensibilité de *Klebsiella sp.* aux antibiotiques

3.3.1 Bêtalactamines

Le tableau suivant récapitule la sensibilité de *Klebsiella sp.* aux bêtalactamines ainsi que le nombre de souches testées pour chaque antibiotique.

Tableau VIII: Sensibilité de *klebsiella sp.* aux bêtalactamines.

Classes	Antibiotiques	Nombre de souches testées	Sensibilité		
			Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensible (%)
Carboxypeni	Ticarcilline	09	100	00	00
Ueïdopeni	Piperacilline	08	75	00	25
Aminopeni+IβL	Amox +AC	15	73,33	00	26,67
Ureïdopeni+IβL	Pip + Tazo	03	33,33	00	66,67
Carbapénème	Imipénème	33	00	00	100
C1G	Cefalotine	10	80	00	20
	Cefalexine	08	62,5	00	37,5
C3G	Ceftriaxone	33	84,85	00	15,15
	Cefotaxime	07	85,70	00	14,3
	Ceftazidime	04	25	00	75
C4G	Céfépime	06	16,66	00	83,34
Monobactam	Aztreonam	07	57,14	28,6	14,26

Les résultats de sensibilité des klebsielles par rapport aux bêta-lactamines montrent une résistance à tous les antibiotiques testés sauf la piperacilline + tazobactam (66,67% de sensibilité), l'imipénème (100% de sensibilité), la ceftazidime et à la céfépime (au moins 75% de sensibilité).

3.3.2 Autres antibiotiques

Le tableau suivant montre la sensibilité en pourcentage de *Klebsiella sp* aux quinolones, aux aminosides, au chloramphénicol et au cotrimoxazole.

Tableau IX: Sensibilité de *Klebsiella sp.* aux fluoroquinolones, aminosides, phénicolé, et au sulfamide et associé.

Classe d'antibiotiques		Nombre de souches testées	Sensibilité		
			Résistance (%)	intermédiaire (%)	Sensibilité (%)
Fluoroquinolones	Ac. Nalidixique	11	45,45	9,1	45,45
	Ciprofloxacine	29	55,2	00	44,8
	Norfloxacine	16	50	6,25	43,75
Aminosides	Amikacine	8	12,5	00	87,5
	Gentamicine	14	78,57	00	21,43
	Kanamycine	6	100	00	00
	Netilmycine	17	52,94	17,65	29,41
Phénicolé	Chloramphénicol	23	60,86	4,36	34,78
Sulfamide et associé	Cotrimoxazole	29	86,20	00	13,80

Ce tableau montre une résistance des klebsielles à tous les fluoroquinolones testés au cotrimoxazole, au chloramphénicol aux aminosides excepté l'amikacine (87,5% de sensibilité).

3.4 Profil de sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa*

3.4.1 Bêtalactamines

Le tableau suivant récapitule le pourcentage de sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux bêtalactamines ainsi que le nombre de souches testées pour chaque antibiotique.

Tableau X: Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux bêtalactamines.

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Sensibilité		
		Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensible (%)
Aztreonam	04	50	00	50
Imipénème	23	17,4	00	82,6
Pipercilline	05	20	00	80
Ticarcilline	07	42,85	00	57,15

Ce tableau montre que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont sensibles à plus de 80% à l'imipénème, à la pipercilline. Par contre elles sont résistantes à environ 50% à l'aztreonam et à la ticarcilline.

3.4.2 Sensibilité aux autres antibiotiques

Le tableau suivant récapitule la sensibilité en pourcentage de *Pseudomonas aeruginosa* aux quinolones, aux aminosides, au chloramphénicol et au cotrimoxazole.

Tableau XI: Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux fluoroquinolones, aminosides, phénicolé, et au cotrimoxazole.

Classe d'antibiotiques		Nombre de souches testées	Sensibilité		
			Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensibilité (%)
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	19	21	00	78,9
	Norfloxacine	6	16,67	00	83,33
	Pefloxacine	12	33,33	00	66,67
Aminosides	Amikacine	3	00	00	100
	Gentamicine	12	16,67	00	83,33
	Kanamycine	4	50	00	50
	Netilmycine	11	36,36	00	63,64
Phénicolé	Chloramphénicol	14	71,43	00	28,57
Sulfamide associé	et Cotrimoxazole	5	80	00	20

Ce tableau montre qu'excepté le cotrimoxazole, le chloramphénicol, la kanamycine, les autres antibiotiques testés ont montré une bonne activité sur les autres antibiotiques.

3.5 Liste des antibiotiques actifs sur les germes isolés

3.5.1 *Staphylococcus aureus*

Tableau XII: Liste des antibiotiques actifs sur *Staphylococcus aureus*.

Antibiotiques	Pourcentage de sensibilité
Betalactamines	
Amox +AC	78,95
Céfalotine	70,6
Céfalexine	91,66
Ceftriaxone	82,21
Céfotaxime	100
Aminosides	
Amikacine/Kanamycine	97,6
Gentamycine/Netilmycine	87,7
Macrolides et parentés	
Erythromycine	79,34
Lincomycine	91,15
Pristinamycine	93,55
Fluoroquinolones	
Ciprofloxacine	96,9
Norfloxacine	100
Péfloxacine	97,85
Sulfamide et associé	
Cotrimoxazole	95,1
Cycline	
Tétracycline	73,33

La majeure partie des antibiotiques testés était actif sur les souches de *Staphylococcus aureus*. Les plus faibles pourcentages de souches sensibles étaient de 70,95% observé avec la

céfalotine, 73,33% observé avec la tétracycline, 78,8% observé avec l'amoxicilline + acide clavulanique, et 79,34% observé avec l'érythromycine.

3.5.2 Entérobactéries

Tableau XIII: Liste des antibiotiques actifs sur les entérobactéries

Classes d'antibiotiques	Antibiotiques	<i>E. coli</i>	Klebsielles
		Pourcentage de sensibilité	Pourcentage de sensibilité
Bêtalactamines	Pipéracilline + tazobactam	–	66,67
	Imipénème	97,62	100
	Céfépime	–	83,34
	Ceftazidime	–	75
Phénicolé	Chloramphénicol	65,85	–
Cyclines	Tétracycline	50	–
Aminoside	Amikacine	97,6	87,5

Il ressort de cet tableau que des antibiotiques testés sur les entérobactéries, très peu sont actifs. Il n'y a que l'imipénème (97,62%) et l'amikacine (97,6%) qui ont une bonne activité sur *E. coli*.

3.5.3 *Pseudomonas aeruginosa***Tableau XIV:** Liste des antibiotiques actifs sur *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotiques	Pourcentage de sensibilité
Betalactamines	
Pipéracilline	80
Imipénème	82,6
Ticarcilline	57,15
Fluoroquinolones	
Ciprofloxacin	78,9
Norfloxacin	83,33
Péfloxacin	66,67
Aminosides	
Amikacine	100
Gentamicine	83,33
Netilmycine	63,64

Ce tableau montre que malgré les multiples résistances observées avec *Pseudomonas aeruginosa*, un nombre considérable d'antibiotiques reste actif sur ce germe. Les faibles pourcentages actifs s'observent avec la ticarcilline (57,15%), la netilmycine (63,64%) et la péfloxacin (66,67%).

DISCUSSION

I. LIMITES DE L'ETUDE

L'étude ayant été rétrospective, le manque de certains antibiotiques dû aux ruptures n'a pas permis de déterminer le phénotype de résistance aux bêtalactamines et aux aminosides. La détermination des BLSE et de la résistance inductive aux MLS n'étant pas systématique au laboratoire, nous ne pouvions pas caractériser les entérobactéries productrices de BLSE et des *Staphylococcus aureus* ayant une résistance inductive au MLS.

II. PROFIL BACTERIOLOGIQUE DES GERMES ISOLEES DE PUS

Dans notre étude, il ressort 495 prélèvements d'infections de site opératoire reçus du service de la chirurgie pédiatrique entre Janvier 2010 et Décembre 2012. Parmi ces prélèvements, 95% étaient constitués de pus et 5% de liquides de ponction. De ces pus, 13 espèces bactériennes regroupant au total 340 germes ont été isolées. Parmi ces espèces, *Staphylococcus aureus* était le germe majoritairement isolé avec une fréquence de 114 soit 33,5% des germes, suivi de *Escherichia coli* avec une fréquence de 91 soit 26,8%. Les germes les plus importants après ces deux étaient *Klebsiella sp* (n = 38 soit 11,2%), *Pseudomonas sp* (n = 24 soit 7,1%) et *Staphylococcus saprophyticus* (n = 20 soit 5,9%).

Nos résultats sont conformes aux données épidémiologiques de l'écologie bactérienne des infections des sites opératoires et corroborent l'étude de **Ben et al.** en 2007 en Tunisie en terme d'espèces isolées. Il a trouvé un taux de prévalence égal 29% pour *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* et 16,2% pour *Escherichia coli* parmi les bactéries multi-résistants isolées en milieu hospitalier (**Ben, R. F, et al., 2007a**). En effet, les bactéries les plus fréquemment isolées des infections des sites opératoires (ISO) sont les staphylocoques, les bacilles à Gram négatif, les entérocoques et *Pseudomonas aeruginosa* (**Ahoyo, T. A., et al., 2014, François, D., et al., 2007**). Même si dans notre cas on n'a pas isolé une souche d'entérocoque, les autres germes isolés correspondent aux données de la littérature. Par contre en termes de proportions nos résultats diffèrent surtout pour *Klebsiella pneumoniae* où ils ont trouvé 29%. Mais ils corroborent celles de l'étude de **Hugard et al.** entre 1989 et 1992 effectuées à l'hôpital Principale de Dakar qui ont trouvé une proportion de *Staphylococcus aureus*, de *Escherichia coli*, de *Klebsiella sp*, égale respectivement à 32,8%, 20,8% et 11,1% en 1989 alors qu'elles étaient dans le même ordre égales à, 31,7%, 17,2% et 8,2% en 1992 (**Hugard, L. et al., 1994**).

Cette prédominance de *Staphylococcus aureus* dans les suppurations pourrait d'une part s'expliquer par la forte prévalence de porteurs sains, qui est comprise entre 20 et 30% dans la population générale. D'autre part elle peut s'expliquer par la porte d'entrée des staphylocoques qui est le plus souvent cutanée, favorisée par une plaie, une excoriation un point de pénétration d'un cathéter et surtout les interventions chirurgicales (E-Pilly, 2008).

III. PROFIL DE SENSIBILITE DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS AUX ANTIBIOTIQUES

Sur l'ensemble des bêtalactamines testés, *Staphylococcus aureus* a présenté une résistance à 03 antibiotiques avec un taux de résistance supérieur ou égal à 60% par rapport à l'ensemble des disques testés. La pénicilline G a 79,9% comme taux de résistance, contre 60% pour l'amoxicilline, et 73,7% pour l'ampicilline. Le reste des bêtalactamines testés a été actif sur *Staphylococcus aureus* avec un taux de sensibilité supérieur à 70% pour tous les antibiotiques. Des taux similaires de résistance aux aminopénicillines ont été retrouvés en 2013 à Kinshasa par **Iyamba et al.** 89,4% de résistance à l'ampicilline et 89% à l'amoxicilline (**Iyamba, J. M. et al., 2014**). Les souches sauvages des Staphylocoques sont normalement sensibles à la pénicilline G, aux aminopénicillines (amoxicilline, ampicilline), aux carboxypénicillines (Ticarilline), aux ureïdopénicillines (piperacilline), aux pénicillines + inhibiteurs de bêtalactamases, aux pénicillines M (meticilline, oxacilline), aux céphalosporines et aux carbapénèmes. Ce qui signifie que la majeure partie des Staphylocoques que nous avons isolés sont en partie résistants aux pénicillines.

Au sein des souches sauvages, émergent des souches ayant acquis des résistances par divers mécanismes. Parmi ces mécanismes nous avons la sécrétion de pénicillinases, et la modification des protéines liant les pénicillines suite à l'expression du gène *mec A*. Les pénicillinases ouvrent le cycle bêtalactame de la pénicilline G, les aminopénicillines et les carboxypénicillines. Par contre les pénicillines + inhibiteurs, les pénicillines M, et les carbapénèmes restent sensibles. En effet les inhibiteurs associés aux pénicillines encore appelés inhibiteurs suicides sont attaqués par les pénicillinases avec qui, ils ont plus d'affinité que les pénicillines. L'interaction entre l'inhibiteur et la bêtalactamase étant irréversible, la pénicilline associée sera épargnée et pourra agir sur la bactérie. Quant aux pénicillines M, les groupements volumineux bloquent leur interaction avec la pénicillinase permettant ainsi d'épargner la pénicilline.

Ces mécanismes de résistance des staphylocoques d'une part et les moyens mis en œuvre pour contourner ces résistances d'autre part, pourraient expliquer l'inactivité de la pénicilline G, l'amoxicilline, l'ampicilline et la sensibilité des autres bêtalactamines, observées dans cette étude.

Nous avons observé 22% de taux de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM). Plusieurs études réalisées en Afrique ont montré un taux élevé de SARM dans nos Hôpitaux. **Ramdani-Bouguessa N. et al.** en 2010 dans leur étude sur les bactéries multi-résistantes dans les infections nosocomiales et communautaires au CHU Mustapha Bacha d'Alger en Algérie entre 2004 et 2009, ont trouvé 30% de SARM en milieu hospitalier qui a progressé pour atteindre 42%, alors qu'en milieu communautaire ce taux était de 35% (**Ramdani-Bouguessa, N. et al., 2010**). Mais cette étude a été réalisée sur une période de 5 ans et a pris en compte l'ensemble de l'hôpital Mustapha Bacha d'Alger ce qui pourrait expliquer la différence observée avec notre résultat. **Amhis W. et al.** ont notifié 37,20% de taux de SARM dans le service de soins intensifs de Hôpital Bologhine en Algérie en 2010, **Falagas et al.** 39% de taux de SARM en 2012 en Côte d'Ivoire, et **Ahoyo et al.** 52,5% au Bénin (**Ahoyo, T. A., et al., 2014, Amhis, W. et al., 2010, Falagas, M. E. et al., 2013**). Même si ces trois études suscitées ont été réalisées sur une échelle plus large que la nôtre, qui pourrait justifier cette large différence, le taux de 22% de SARM que nous avons trouvé reste élevé et traduit le niveau inquiétant de ces SARM.

IV. PROFIL DE SENSIBILITE DE *ESCHERICHIA COLI* ET DE *KLEBSIELLA SP.* AUX ANTIBIOTIQUES.

L'analyse des résultats de la résistance de *Escherichia coli* aux bêtalactamines montrent une importante résistance aux amino-pénicillines, aux carboxy-pénicillines, aux uréido-pénicilline (taux de résistance supérieur à au moins 75%), aux céphalosporines de deuxième et aux troisièmes générations. Pour les pénicillines + inhibiteurs de bêtalactamases, on observe une résistance importante avec 66,66% de taux de résistance pour l'amoxicilline plus acide clavulanique. L'imipénème reste sensible avec 97,62% comme taux de sensibilité. Pour les autres antibiotiques, on observe une bonne sensibilité à l'amikacine (75%), une sensibilité légèrement au-dessus de la moyenne pour le chloramphénicol (65,85%), et moyen pour la tétracycline (50%). Ces résultats montrent que nos souches de *E. coli* sont majoritairement résistantes aux bêtalactamines. Les 72,6% et 75% de résistance au C3G montrent qu'environ 70% des souches de *E. coli* produisent probablement, soit une

céphalosporinase haut niveau soit une BLSE. En effet les souches sauvages *Escherichia coli* sont naturellement sensibles aux pénicillines, céphalosporines de première, deuxième et troisième génération, et celles qui produisent les céphalosporinases haut niveau sont résistantes aux C3G (François, J., *et al.*, 2003). L'étude d'Ahoyo *et al.* au Benin qui ont trouvé 67,6% de résistance de *E. coli* à la ceftazidime traduit avec nos résultats, le niveau inquiétant de multi-résistance de ce germe dans nos hôpitaux.

Quant aux résultats de la résistance de *Klebsiella sp.* aux bêta-lactamines, ils montrent une résistance à 100% à la ticarcilline, une résistance importante à la piperacilline (75%). La résistance à ces deux antibiotiques est normale parce que les Klebsielles sont naturellement résistantes aux carboxypénicillines, et aux uréidopénicillines à cause de la pénicillinase à bas niveau qu'elles produisent. On observe aussi une résistance importante aux céphalosporines de 3^{ème} génération c'est-à-dire 84,85% à l'amoxicilline, 85,7% à la cefotaxime, excepté la ceftazidime et la cefepime qui ont une importante activité égale respectivement à 75% et 83,34%. Cette résistance observée avec les C3G, et la sensibilité des C3G à spectre élargie (cefepime et ceftazidime), montre que la majeure partie des souches de Klebsielles isolées sont de BMR productrices de céphalosporinases à haut niveau (François, J., *et al.*, 2003). Un taux de résistance similaire aux C3G a été observé avec Dinda *et al.* à Nairobi qui ont trouvé 67% de résistance à la cefotaxime entre 2008 et 2009 (Dinda, V. *et al.*, 2013). L'amoxicilline + inhibiteur reste en majorité résistant (73,33%) contrairement à la piperacilline + inhibiteur qui est sensible à 66,67%. L'imipénème reste toujours sensible à 100% des cas.

V. PROFIL DE SENSIBILITE DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* AUX ANTIBIOTIQUES.

Nous avons noté une sensibilité de 22,22% à l'aminopénicilline + inhibiteur (amoxicilline + acide clavulanique), une résistance de 75% aux céphalosporines de première génération (cefalotine), une résistance de 85,7% aux céphalosporines de troisième génération. Par contre, la piperacilline (uréidopénicilline) et l'imipénème ont montré une sensibilité importante qui est respectivement égale à 80% et 82,6% ce qui est normal car *Pseudomonas aeruginosa* est naturellement sensible à ces deux molécules. La ticarcilline et l'aztréonam ont une sensibilité moyenne égale respectivement à 57,15% et 50%. Le niveau de résistance aux C3G que nous avons trouvé est confirmé par Ahoyo *et al.* au Benin qui ont trouvé 68,2% de résistance à la ceftazidime. Ces résultats traduisent un taux élevé de souches résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* étant donné que nous avons une faible sensibilité à l'aztréonam. En effet le

phénotype sauvage de *Pseudomonas aeruginosa* se traduit par une résistance aux aminopénicillines, seules ou associées à des inhibiteurs de β -lactamases et aux C1G et C2G. Il est sensible aux carboxypénicillines, aux ureïdopénicillines, à certains C3G, aux monobactames et aux carbapénèmes (**François, J., et al., 2003**).

VI. EN RESUME

Cette étude a révélé un niveau de résistance assez élevé des bactéries qui pourraient s'expliquer par le niveau d'hygiène précaire, l'utilisation abusive et irrationnelle des antibiotiques dans nos hôpitaux et aussi par l'automédication aux antibiotiques qui est très fréquente dans nos pays. Cette automédication a été évaluée à 40,8% des patients dans l'étude de **Ahoyo et al.** au Benin qui ont relevé 52,5% de taux de SARM (**Ahoyo, T. A., et al., 2014**). Toutes ces mauvaises habitudes pourraient compromettre la sensibilité des antibiotiques de dernier recours comme les fluoroquinolones et les MLS qui ont montré une bonne activité dans notre étude et qui font partie des antibiotiques utilisés pour traiter les SARM (**Hashem, R. A. et al., 2013**). Ces fluoroquinolones sont sujet à des résistances comme le témoigne l'étude de **Hashem et al.** en Egypte qui ont trouvé 58% de résistance à ces fluoroquinolones parmi les SARM qu'ils ont isolés (**Hashem, R. A., et al., 2013**). La sensibilité élevée à l'imipénème montre qu'il reste toujours l'antibiotique de dernier recours en cas de bacilles multi résistantes malgré son coût élevé. Le coût onéreux de ces antibiotiques de dernier recours est en partie responsable de la cherté de la prise en charge des patients chez qui on a isolé les BMR. Ce coût est évalué en 2005 en Tunisie à environ 2100 Dinar Tunisien soit environ 600.000 FCFA (**Ben, R. F et al., 2007b**). Le reste du surcoût pourrait être attribué au prolongement de la durée du séjour des malades et aux actes supplémentaires. Ce qui constitue même la problématique des infections à BMR.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION

Cette étude a permis de déterminer l'écologie bactérienne des infections de site opératoire du service de chirurgie du Centre Hospitalier Universitaire Pédiatrique Charles de Gaulle de Ouagadougou. L'écologie bactérienne a révélé une prédominance de *Staphylococcus aureus* suivi de *Escherichia coli*, de *Klebsiella sp* et de *Pseudomonas aeruginosa*. Ce qui est conforme à l'écologie bactérienne des pus des infections des sites opératoires couramment décrite. Au moins 60% de résistance de *Staphylococcus aureus* a été observé avec la pénicilline G, l'amoxicilline, l'ampicilline. Quant aux autres bêtalactamines, le taux de sensibilité était égal à au moins 70%. Nous avons également noté un taux élevé de SARM d'environ 22%, et un niveau de résistance très élevé aux antibiotiques de *Escherichia coli* de *Klebsiella sp.* et de *Pseudomonas aeruginosa*. Cette forte prévalence de BMR pourrait s'expliquer par le niveau d'hygiène précaire de l'environnement et le manu portage du personnel soignant qui peut transmettre les germes résistants aux patients au cours des interventions ou aux soins médicaux au cas où les règles d'hygiène ne sont pas rigoureusement appliquées. Cette étude même si elle présente des insuffisances liées à son caractère rétrospectif, elle donne une idée sur le niveau de résistance des germes isolés du service de la chirurgie entre 2010 et 2012. Elle pourrait dans ce cas servir d'amorce pour un système de surveillance et de prévention à l'émergence et à la dissémination des bactéries multi-résistantes à partir d'études prospectives au sein du centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle de Ouagadougou.

RECOMMANDATIONS

Au comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) CHUP-CDG :

- Mettre en place un plan d'éradication des BMR
- Renforcer la surveillance épidémiologique des BMR.
- Mettre en place une série de sensibilisations du personnel soignant sur l'hygiène des mains et de l'environnement.

Aux personnels de la santé :

- D'observer les mesures d'hygiène strictes des mains et de l'environnement afin de lutter efficacement contre les infections à transmission croisée.
- D'effectuer les traitements de prédilection sur la base des données épidémiologiques de l'écologie et de la sensibilité des bactéries isolées de chaque service.

REFERENCES

- Ahoyo, T. A.; H. S. Bankole; F. M. Adeoti; A. A. Gbohoun; S. Assavedo; M. Amoussou-Guenou; D. A. Kinde-Gazard and D. Pittet.** 2014. "Prevalence of Nosocomial Infections and Anti-Infective Therapy in Benin: Results of the First Nationwide Survey in 2012." *Antimicrob Resist Infect Control*, 3, 17.
- Amhis, W.; H. Tirchi and N. Laifa.** 2010. "Impact Du Contrôle Et De La Prévention Des Infections Associées Aux Soins En Unité Des Soins Intensifs : Bilan De 3 Années (2007-2010) " 3^{ème} journées Maghrebines d'Hygiène Hospitalière. 15.
- Avril, J. L.; Henry D.; François D. and Henri M.** 1992. *Bacteriologie Clinique*. ellipses 9-29.
- Badarau, A.; H. Rouha; S. Malafa; D. T. Logan; M. Hakansson; L. Stulik; I. Dolezilkova; A. Teubenbacher; K. Gross; B. Maierhofer, et al.** 2014. "Structure-Function Analysis of Heterodimer Formation, Oligomerization and Receptor Binding of the *Staphylococcus aureus* Bi-Component Toxin LukGh." *J Biol Chem*, 142-56.
- Ben, R. F; Ch Bouguerra; O Sahnoun; Ch Loussaief; B Kacem; M Mastouri; R Tabka-Stambouli; M Chakroun and N Bouzouaïa.** 2007a. "Les Bactéries Multi-Résistantes Isolées Chez Les Malades Hospitalisés Dans Un Service De Maladies Infectieuses." *rev tun infectiol*, 1(4), 12 – 15.
- Bradford, PA.** . 2001. "Extended-Spectrum B-Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat." *Clin Microbiol Rev*, 933-51.
- CA-sfm.** 2013. "Recommandation 2013," Société française d'antibiologie, 29-33.
- Clotilde, N.; A. Dieudonné; B. André; A. Noel; S. Gérald; K. Basile and B. Fidèle.** 2013. "Écologie Bactérienne De L'infection Nosocomiale Au Service De Réanimation De L'hôpital Laquintinie De Douala, Cameroun " *Pan African Medical Journal*, 14, 140.
- Dinda, V.; R. Gunturu; S. Kariuki; A. Hakeem; A. Raja and A. Kimang'a.** 2013. "Pattern of Pathogens and Their Sensitivity Isolated from Surgical Site Infections at the Aga Khan University Hospital, Nairobi, Kenya." *Ethiop J Health Sci*, 23(2), 141-9.
- E-Pilly.** 2008. *Maladies Infectieuses Et Tropicales*. CMIT325-331.
- Falagas, M. E.; D. E. Karageorgopoulos; J. Leptidis and I. P. Korbila.** 2013. "Mrsa in Africa: Filling the Global Map of Antimicrobial Resistance." *PLoS One*, 8(7), e68024.

- Fielbelkorn, K. R.; S. A. Crawford; M. L. McElmeel and J. H. Jorgensen.** 2003. "Practical Disc Diffusion Method for Detection of Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci." *J. Clin. microbiol.*, 41, 4740-4.
- François, D.; P. Marie-Cecile; M. Christian; B. Edouard and Q. Roland.** 2007. *Bactériologie Médicale, Techniques Usuelles.* 165-69.
- François, J.; C. Monique; W. Michèle and G. Alain.** 2003. *De L'antibiogramme À La Prescription.* Biomérieux62-87.
- Haroche, Julien; Anne Morvan; Marilynne Davi; Jeanine Allignet; François Bimet and Névine El Solh.** 2003. "Clonal Diversity among Streptogramin a-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Collected in French Hospitals." *J Clin Microbiol*, 41(2), 586-591.
- Hashem, R. A.; A. S. Yassin; H. H. Zedan and M. A. Amin.** 2013. "Fluoroquinolone Resistant Mechanisms in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates in Cairo, Egypt." *J Infect Dev Ctries*, 7(11), 796-803.
- Hugard, L.; B. Ndoye and Ch Saccharin.** 1994. "Comparaison Des Principaux Germes Isolés De Pus En 1989 Et 1992 À L'hôpital Principal De Dakar." *Medecine d'Afrique Noire*, 41(1), 32-35.
- Iyamba, J. M.; J. M. Wambale; C. M. Lukukula and N. Z. Takaisi-Kikuni.** 2014. "High Prevalence of Methicillin Resistant Staphylococci Strains Isolated from Surgical Site Infections in Kinshasa." *Pan Afr Med J*, 18, 322.
- Kwieceński, J.; T. Jin and E. Josefsson.** 2014. "Surface Proteins of *Staphylococcus aureus* Play an Important Role in Experimental Skin Infection." *APMIS*, 122(12), 1240-50.
- Natacha, V. and L. Marie-Laurence.** 2011. "Indicateurs De Qualité En Hygiène Hospitalière, Rapport Final.," Instiut scientifique de santé (Belgique), 17-24.
- Nuran, D.; A. Gonul; O. Candan; B. Vildan; S. Sebahat and E. Gurol.** 2005. "Inducible Clindamycin Resistance in Staphylococci Isolated from Clinical Samples." *Jpn. J. Infect. Dis.*, 58, 104-106.
- Patrice, C.** 2008. "La Résistance Des Bactéries Aux Antibiotiques:Combinaisons De Mécanismes Bichimiques Et Génétiques," B. A. V. France.www.academie-veterinaire-defrance.org, 360.
- Raisin, Réseau REA.** 2009. "Surveillance Des Infections Nosocomiales En Réanimation Adulte: Résultats 200 France.," Institut de veille sanitaire, 60.
- Ramdani-Bouguessa, N.; F. Djennane; H. Ziane; M. Neggazi; A. Beloui; N. Zemmouli and M. Tazir.** 2010. "Place Des Bactéries Multirésistantes Dans Les Infections Nosocomiales

Et Communautaires Au Chu Mustapha Bacha (2004-2009)." *3^{ème} journées Maghrebines d'Hygiène Hospitalière*. 11.

Robert, J. R.; A. H. Catherine; Anna P.; D. Kimberly; A. G. Jeremy and M. Adil. 1999. "The Economic Impact of *Staphylococcus aureus* Infection in New York City Hospitals." *Emerging Infectious Diseases.*, 5.No1(1), 9-17.

Simeu, C.; M. Simo; F. Binam and Ferrier. 1993. "Infections Nosocomiales Post-Opératoire En Milieu Hospitalier Camerounais : Épidémiologie Et Prévention." *Med Trop*, 53, 167-172.

Struelens, MJ. and O. Denis. 2000. "*Staphylococcus aureus* Résistant À La Méricilline : Vers Une Réponse Coordinée À Un Défi Persistant " *Euro Surveillance*, 5(3), 25-26.

Sylvie, Carle. 2009. "La Résistance Aux Antibiotiques : Un Enjeu De Santé Publique Important ! ." *Pharmactuel Supplément 2 Décembre 2009 Supplément 2009*, 42 6-21.

Vincent, C. 2008. "Les Nouvelles Beta-Lactamases a Spectre Etendu (Blse)," *MAPAR*. 203-209.

Yvon, M-B. 2009. *Une Histoire De La Résistance Aux Antibiotiques: A Propos De Six Bactéries*. L'Harmattan360.

ANNEXES

Annexe n°1: Phénotype de résistance acquise des Staphylocoques (François, J. *et al.*, Mars 2003).

Tableau a : Phénotype de résistance aux β -lactamases

Mécanisme	Pénicilline G Pénicilline A Carboxypenicilline Urédopenicilline	ATB+ Inhibiteur de β -lactamase	Pénicilline M	Céphalosporines Carbapénèmes
Sauvage	S	S	S	S
Pénicillinase	R	S	S	S
Modification des PLP, gène <i>mecA</i>	R	R	R	R
BORSA	R	S/R	R	S
MODSA	S	S	R	S

BORSA : Boderline S. aureus, MODSA : Modified S. aureus

Tableau b : phénotypes de résistance des staphylocoques aux aminosides

Phénotypes	Enzymes	Kanamycine Amikacine Isepamicine	Tobramycine Dibekacine	Gentamicine Netilmicine
Sauvage	–	S	S	S
K	APH 3' – III	R	S	S
KT	ANT – 4' – 4"	R	R	S
KTG	APH 2" – AAC 6	R	R	R

Tableau c : Phénotype de résistance acquise des staphylocoques aux MLS

Mécanisme	Génotype	Phénotype	M14 ⁽¹⁾	M16 ⁽³⁾	Lin	Clin	PriI	PriII	Pri ⁽⁴⁾	KET ⁽⁵⁾
Modification	<i>erm</i>	MLS _B	R	S	S	S	S	S	S	S
	inductible									
de la cible	<i>erm</i>	MLS _B	R	R	R	R	R	S	(S) ⁽⁶⁾	R
	constitutive									

(1) M14: érythromycine, clarithromycine, dirithromycine

(2) M15 : azythromycine

(3) M16 : spiramycine, josamycine, médicamycine, tylosine

(4) Pristinamycine

(5) Ketolides

(6) (S) : antibiotique dont l'activité bactériostatique ou bactéricide est diminuée

Annexe n°2: phénotypes de résistance acquis des entérobactéries aux bêtalactamines (François, J., *et al.*, Mars 2003).

Tableau a : Résistance naturelle des entérobactéries aux betalactamines.

Groupe de β -lactamines	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Principaux genres d'entérobactéries rencontrées en milieu hospitalier	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	<i>Klebsiella Citrobater koseri</i>	<i>Enterobacter Serratia Morganella Providencia Citrobacter freundii</i>	<i>Yersinia</i>
Aminopénicillines	S	R	R	R
Carboxypénicillines	S	R	S	R
Uréidopénicillines	S	I/R	S	I/R
C1G	S	S	R	R
C3G	S	S	S	S
Carbapénèmes	S	S	S	S
Mécanismes de résistances	Absence de β -lactamase	Pénicillinase à bas niveau	Céphalosporinase à bas niveau	Pénicillinase + céphalosporinase

Tableau b : résistances acquises des entérobactéries aux β -lactamines

Antibiotiques marqueurs	Pénicilline bas niveau	Pénicilline haut niveau	Pénicilline résistante aux I β L	Céphalosporine bas niveau	Céphalosporine haut niveau	BLSE ¹
Amoxicilline AMX aminopénicilline	R	R	R	R	R	R
Amoxicilline +Ac.clavulanique AMC aminopénicilline+I β L	S	I/R	R	R ²	R ²	R ³
Ticarcilline TIC carboxypénicilline	R	R	R	S	R	R
Mécillinam MEC aminidopénicilline	S	R	R	S	S	R
Céfalotine CF (C1G)	S	R	S	R	R	R
Ceftazidime CTX (C3G)	S	S	S	S	R	R ou synergie ⁴

1 : BLSE : β -lactamase à spectre élargi. | **2** : I β L : les inhibiteurs des β -lactamases n'inhibent pas les céphalosporinase (les céphalosporinases sont néanmoins des β -lactamases) | **3** : souche résistante parfois intermédiaire, dans tous les cas le diamètre d'inhibition pour l'AMC est supérieur à celui de l'AMX. | **4** : Certaines BLSE peuvent donner un profil

Annexe n°3 : liste des antibiogrammes testés en fonction des germes établie selon les recommandations du CA-sfm.

a) **Pseudomonas**

ANTIBIOTIQUES	SYMBOLES	CHARGE DU DISQUES
Tircacilline	TIC	75 µg
Piperacilline	PIP	75 µg
Ceftazidime	CAZ	30 µg
Imipénème	IPM	10 µg
Céfepime	FEP	30 µg
Aztéonam	ATM	30 µg
Gentamicine	GEN	15 µg (10 UI)
Tobramycine	TM	10 µg
Amikacine	AN	30 µg
Nétilmicine	NET	30 µg
Ciprofloxacine	CIP	5 µg
Colistine	CS	50 µg
Fosfomycine	FOS	50 µg

b) Entérobactéries

ANTIBIOTIQUES	SYMBOLES	CHARGE DU DISQUES
Amoxicilline ou Ampicilline	AMX ou AM	25 µg ou 10 µg
Tircacilline	TIC	75 µg
Piperacilline	PIP	75 µg
Amoxicilline + ac. Clav	AMC	(20 + 10) µg
Céfalotine	CF	30 µg
Ceftriaxone ou Cefotaxime	CRO ou CTX	30 µg
Céfepime	FEP	30 µg
Aztéonam	ATM	30 µG
Ceftazidime	CAZ	30 µg
Imipénème	IPM	10 µG
Gentamicine	GM	15 µg (10 UI)
Tobramicine	TM	10 µg
Amikacine	AN	30 µg
Nétilmicine	NET	30 µg
Acide nalidixique	NA	30 µg
Norfloxacine	NOR	5 µg
Ciprofloxacine	CIP	5 µg
Cotrimoxazole	SXT	23,75 µg + 1,25 µg
Colistine	CS	50 µg
Chloramphénicol	C	30 µg
Fosfomycine	FOS	50 g

c) Staphylocoque sp

ANTIBIOTIQUES	SYMBOLES	CHARGE DU DISQUES
Pénicilline G	P	10 UI
Oxacilline	OXA	1 ou 5 µg
Cefoxitine	FOX	30 µg
Gentamicine	GM	15 µg (10 UI)
Tobramycine	TM	10 µg
Nétilmicine	NET	30 µg
Kanamycine	K	30 UI
Tétracycline	TE	30 µg
Péfloxacine	PEF	5 µg
Ciprofloxacine	CIP	5 µg
Cotrimoxazole	SXT	23,75 µg + 1,25 µg
Acide fusidique	FA	10 µg
Colistine	CS	50 µg
Erythromycine	E	30 µg (15 UI)
Lincomycine	L	15 µg
Pristinamycine	PR	15 µg
Vancomycine	VA	30 µg
Fosfomycine	FOS	50 µg

d) *Streptococcus sp*

ANTIBIOTIQUES	SYMBOLES	CHARGE DU DISQUES
Pénicilline G	P	10 Ui
Ampicilline	AM	10 µg
Oxacilline	OXA	5 µg
Pipéracilline	PIP	75 µg
Gentamicine	GM	500 µg
Streptomycine	TM	500 µg
Kanamycine	K	1 000 µg
Tétracycline	TE	30 UI
Cotrimoxazole	SXT	23,75 µg + 1,25 µg
Erythromycine	E	15 UI
Lincomycine	L	15 µg
Pristinamycine	PR	15 µg
Vancomycine	VA	30 µg

Résumé

Introduction : Les infections des sites opératoires (ISO) occupent la deuxième position des infections nosocomiales. *Staphylococcus aureus* est le germe le plus isolé de ces ISO et les SARM sont parmi les défis majeurs de santé publique dans les établissements de soins à travers le monde. L'émergence de ces germes favorisée par le manu – portage du personnel soignant et le manque d'hygiène en général a contribué à l'augmentation du coût de la prise en charge de patients atteints d'infections nosocomiales. Le but de cette étude est de dresser une liste des bactéries fréquemment isolées au cours des ISO en faisant ressortir le taux des SARM à fin de booster les comités de lutte contre les infections nosocomiales au sein de nos hôpitaux pour la mise en place d'actions préventives.

Méthode : Cette étude rétrospective a été réalisée au laboratoire d'analyses médicales en collaboration avec le service de chirurgie du CHUP – CDG de Ouagadougou entre Janvier 2010 et Décembre 2012. Les données ont été collectées à partir du registre du laboratoire. La nature du prélèvement et les germes isolés de chaque pus ont été répertoriés ainsi que les données sur la sensibilité par rapport à chaque antibiotique testé. L'ensemble de ces données ont été reportées sur fichier Excel et analysé par le logiciel Epi info.

Résultats : Au total 495 prélèvements ont été reçus dont 95 % (n= 470) de pus et 5 % (n= 25) de liquide de ponction, avec 340 germes isolés. *Staphylococcus aureus* était majoritaire (n=114), suivi de *E. coli* (n=91) et *Klebsiella sp* (n=38). Le nombre de SARM était de 25 sur les 114 souches soit 22 %.

Conclusion : Cette étude a montré une forte prévalence de SARM qui pourrait s'expliquer par le niveau d'hygiène précaire de l'environnement et le manu portage du personnel soignant qui peut transmettre les germes résistants aux patients au cours des interventions ou des soins médicaux au cas où les règles d'hygiène ne sont pas appliquées. Malgré ses limites en tant qu'étude rétrospective, elle pourrait servir d'amorce pour la mise en place d'une action préventive de l'émergence et de la dissémination des bactéries multi-résistantes à partir d'études prospectives au sein du CHUP – CDG de Ouagadougou.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, SARM, infections de sites opératoires, CHUP – CDG, Ouagadougou.

Auteur : Issa TONDE, PharmD, interne des hôpitaux du Burkina, S/C : CHUP – CDG, 01 BP 1198 Ouagadougou 01. Tél/fax : (226)50366776/77/79.