

Liste des abréviations

ABG: Antibiogrammmme

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AMX: Amoxicilline

AMC: Amoxicilline + clavulanate

ATCC : American Type Culture Collection

ATM: Aztréonam

BGN: Bacilles Gram Négatif

BLSE: Bêta-Lactamases à Spectre Elargi

BMR: Bacilles Multi-Résistants

BNF: Bacilles Gram Négatif Non Fermentaires

CAZ: Ceftazidime

CF: Céfalotine

CFX: Céfuroxime

CHNEAR: Centre Hospitalier National d'Enfants Albert Royer

CIP: Ciprofoxacine

CTX: Céfotaxime

EMB: Eosin Methylen Blue

EPC : Entérobactéries Productrices de Carbapénèmases

ERT: Ertapénème

E. coli : Escherichia coli

FEP: Céfepime

GM: Gentamycine

IMP: Imipénème

IN: Infections Nosocomiales

KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase

MBL: Metallo-βéta-Lactamase

MH : Mueller Hinton

NOR: Norfloxacine

PIP: Pipéracilline

Pyo: *Pseudomonas aeruginosa*

RAM: Réanimation médicale

SSS: Sulfamides

SXT: Cotrimoxazole

TE: Tétracycline

TCC: Ticarcilline + clavulanate

TIC: Ticarcilline

TM: Tobramycine

Liste des tableaux

Tableau I. Carbapénèmases à diffusion géographique produites par les bacilles à Gram négatif	9
Tableau II : Prévalence des BMR isolés	17
Tableau III : Répartition des BMR par site d'isolement	18
Tableau IV : Répartition globale des isolats suspects de production de carbapénèmases	20

Liste des figures

Figure 1 : Structure générale des carbapénèmes	5
Figure 2 : Structure chimique des carbapénèmes	6
Figure 3 : Test de Hodge Modifié.....	10
Figure 4 : Répartition des BMR selon les germes	18
Figure 5 : Pourcentage de résistance des souches de bacilles à Gram négatif non fermentaires aux antibiotiques	19
Figure 6 : Pourcentage de résistance des entérobactéries aux antibiotiques	20

Sommaire

<u>INTRODUCTION</u>	1
1. Bacilles à Gram négatif	2
1.1 Entérobactéries.....	2
1.2 Bacilles à Gram négatif non fermentaire.....	3
2. Carbapénèmes	4
2.1. Définition	4
2.2. Structure chimique.....	5
2.3. Propriétés Pharmacologiques.....	6
2.4. Mécanismes d'Action des Carbapénèmes.....	7
2.5. Spectre d'Activité.....	7
2.6. Mécanismes de résistance des bactéries aux carbapénèmases.....	7
3. Carbapénèmases	7
3.1. Types de carbapénèmases	7
3.2. Méthodes de détection des carbapénèmases.....	9
3.2.1. Méthodes phénotypiques.....	10
3.2.1.1. Test de Hodge.....	10
3.2.1.2. Méthodes du E-Test ou disques combinées.....	11
3.2.1.3. Tests biochimiques.....	11
3.2.1.4. Méthode du milieu gélosé avec inhibiteurs.....	11
3.2.2. Méthodes génotypiques ou moléculaires.....	12

Deuxième Partie

1. Cadre - période de l'étude	13
1.1. Cadre de l'étude	13
1.2. Période de l'étude	13
2. Matériel - Méthodes	13

<u>2.1. Matériel</u>	13
<u>2.2. Méthodes de l'étude</u>	14
<u>3. Résultats</u>	17
<u>3.1. Prévalence des BMR isolés selon les zones de prélèvements</u>	17
<u>3.2. Répartition des BMR selon les espèces</u>	17
<u>3.3. Répartition des BMR par site d'isolement</u>	18
<u>3.4. Etude de la sensibilité des BMR aux antibiotiques</u>	19
<u>3.4.1. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des BGN non fermentaires</u>	19
<u>3.4.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries</u>	19
<u>3.5. Souches suspectes de production de carbapénémases</u>	20
<u>3.6. Répartition annuelle des souches suspectes de produire une carbapénémase</u> ...	20
<u>3.7. Souches productrices de carbapénémases</u>	21
<u>4. Commentaire-Discussion</u>	22
<u>CONCLUSION</u>	24
<u>REFERENCES</u>	25
<u>ANNEXES</u>	



Introduction

L'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques constituent un problème majeur de santé publique. Une des conséquences de cette situation est l'augmentation de la fréquence d'isolement de bactéries multirésistantes (BMR) responsables d'une part d'un taux croissant de morbidité et de la mortalité chez les patients infectés et, d'autre part, un surcoût lié à l'hospitalisation c'est-à-dire la durée et les frais afférents.

Ce phénomène est mondial et concerne, à des degrés variables, toutes les espèces bactériennes ; il est provoqué essentiellement par les habitudes de prescription d'antibiotiques, la multiplicité des procédures invasives diagnostiques et thérapeutiques et les mauvaises pratiques d'hygiène hospitalière [1,2].

Les infections graves, surtout celles contractées à l'hôpital, sont dues essentiellement à des BMR parmi lesquelles les bactéries à Gram négatif (BGN) occupent une place prépondérante. La plupart des structures hospitalières ont réservé les carbapénèmes pour traiter ces infections nosocomiales (IN) [4]. Malheureusement, nombre de ces BGN multirésistants produisent des enzymes multiples nommées carbapénèmases qui les rendent de moins en moins sensibles à ces molécules. Depuis la découverte en 1982 de ces enzymes [3], codées aussi bien par des gènes chromosomiques que plasmidiques, la diffusion des souches qui les sécrètent ne cesse d'augmenter de façon régulière voire épidémique, aussi bien dans les pays développés [5] que dans ceux en développement [6].

Au Sénégal, la prévalence des bactéries productrices de carbapénèmases est très peu documentée. Pour pallier ce manque de données épidémiologiques, nous avons entrepris cette étude sur les BGN isolés dans l'environnement de l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar ; précisément, nous avons travaillé sur des échantillons collectés dans l'Unité de Néonatalogie. L'objectif général du travail était de rechercher la proportion des BGN multi-résistants producteurs de carbapénèmases dans l'environnement de travail de la néonatalogie ; les objectifs spécifiques concernaient :

- L'identification des espèces bactériennes présentes dans l'environnement de travail de la néonatalogie,
- La détermination du taux de souches secrétrices de carbapénèmases,
-



Première Partie:

Rappels

- La determination du profil de résistance aux antibiotiques des souches.

1. Bacilles à Gram Négatif

Nous limiterons notre propos aux entérobactéries (*Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Enterobacter*) et aux BGN non fermentaires (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*) détectées lors de notre travail.

1.1. Entérobactéries [6,7]

La famille des *Enterobacteriaceae* se définit par sept principaux caractères :

- Bacilles à Gram négatif ;
- Mobiles périthriches ou immobiles ;
- Cultivant sur milieux (gélose, bouillon) ordinaires ;
- Aérobies-anaérobies facultatifs ;
- Ne produisant pas d'oxydase ;
- Produisant une nitrate réductase ;
- Fermentant le glucose (bacilles fermentaires).

Ce sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et des animaux, elles peuvent proliférer en abondance dans l'environnement (sols et eaux) et participer ainsi aux cycles de dégradation des matières organiques [6,7].

Plus de 100 espèces ont été répertoriées ; celles isolées de façon récurrente en clinique humaine appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, et *Yersinia*. Ces bactéries acquièrent assez facilement le caractère multirésistant aux antibiotiques. Les souches productrices de carbapénèmes appartiennent aux genres suivants :

- *Klebsiella*

Il contient des espèces immobiles, fermentant le lactose et sont réaction de Voges-Proskauer (VP) positive c'est-à-dire produisent de l'acétoïne. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*

(*K. pneumoniae*), bactérie commensale mais responsable d'infections diverses chez l'homme chez qui les isolats retrouvés sont des BMR.

➤ ***Enterobacter***

Comme les klebsielles, elles sont lactose (+), VP (+) mais mobiles périthriches. Parmi les espèces souvent isolées chez l'homme on a :

Enterobacter cloaceae, *E. agglomerans* et *E. aerogenes*.

➤ ***Proteus***

Les espèces classées ici sont mobiles, ne fermentent pas le lactose mais produisent une tryptophane désaminase (TDA) et de l'hydrogène sulfureux (SH₂). Deux espèces sont fréquemment isolées : *P. mirabilis* et *P. vulgaris* ; elles sont habituellement pathogènes opportunistes et multirésistantes.

➤ ***Providencia***

Les principales espèces sont : *P. vulgaris*, *P. stuartii*, *Providencia alcalifaciens* et *P. rettgeri*. Elles possèdent les mêmes caractères que les *Proteus*, hormis la production de SH₂.

1.2. Bacilles à Gram négatif non fermentaires [1,7,9,10,11,13,14,15]

Appartenant à différentes familles, ces bactéries ne fermentent pas le glucose, d'où la notion de bacilles non fermentaires. Certaines sont mobiles polaires et d'autres sont immobiles. A la culture, certaines espèces donnent des colonies pigmentées en bleu ou en vert ou en jaune etc.

Habituellement aérobies stricts, ces pathogènes opportunistes, ayant pour habitat naturel l'environnement, sont répartis en 11 genres : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Comamonas*, *Brevundimonas*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas*, *Chryseomonas*, *Flavimonas*, *Chryseobacterium*, *Flavobacterium*, *Weeksella*, *Alcaligenes*, *Sphingobacterium* et *Agrobacterium*. Les isolats retrouvés en pathologie humaine appartiennent dans 75 % des cas, aux genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter*. Quant à la production de carbapénèmases, elle est le fait essentiellement d'isolats appartenant aux genres ci-après :

➤ ***Pseudomonas***

Ici sont classées des bacilles oxydase (+), mobiles périthriches, nitrate réductase variable, appartenant aux espèces *P. aeruginosa*, *P. stutzeri*, *P. fluorescens* et *P. putida*.

P. aeruginosa est le type même des bactéries opportunistes pathogènes chez l'immunodéprimé. Les souches isolées dans ces situations produisent des toxines diverses (cytotoxine nécrosante, exotoxines protéiques).

➤ ***Acinetobacter***

L'espèce type est *A. baumannii*; elle est présente chez l'homme sur la peau et dans l'environnement dans le sol et l'eau.

➤ ***Stenotrophomonas maltophilia***

Bactérie ubiquiste, elle vient juste après *P. aeruginosa* en termes de fréquence d'isolement chez les immunodéprimés en milieu hospitalier.

2. Carbapénèmes

2.1. Définition

Les Carbapénèmes appartiennent à la famille des Bétalactamines (β -lactamines). Ce sont des antibiotiques très résistants aux enzymes inactivant les β -lactamines nommées Bétalactamases. Leur spectre d'activité est le plus étendu de toutes les β -lactamines.

Elles doivent être réservées à un usage exclusivement hospitalier ; leur indication principale est le traitement des infections associées aux soins et provoquées par les BMR.

Les carbapénèmes actuellement commercialisées sont l'Imipénème, l'Ertapénème, le Méropénème et le Doripénème [16]. Parmi elles, l'Imipénème et l'Ertapénème sont disponibles au Sénégal.

2.2. Structure chimique

Les molécules utilisées aujourd’hui dérivent de la Thiénamycine isolée en 1976 à partir de *Streptomyces cattleya*. Leur cycle de base contient un atome de carbone au lieu d’un soufre en position 1 et une liaison insaturée en C2-C3. La stabilité vis-à-vis des aux Bétalactamases est due à la trans-orientation des atomes d’hydrogène en C5 et C6, mais aussi à la présence d’une chaîne *hydroxyethyl* en C6 au lieu de la chaîne *acylamino* des pénicillines et des céphalosporines [17]. Des modifications du substituant en position 2 confèrent un gain d’activité *in vitro* au Méropénème et au Doripénème sur les BGN.

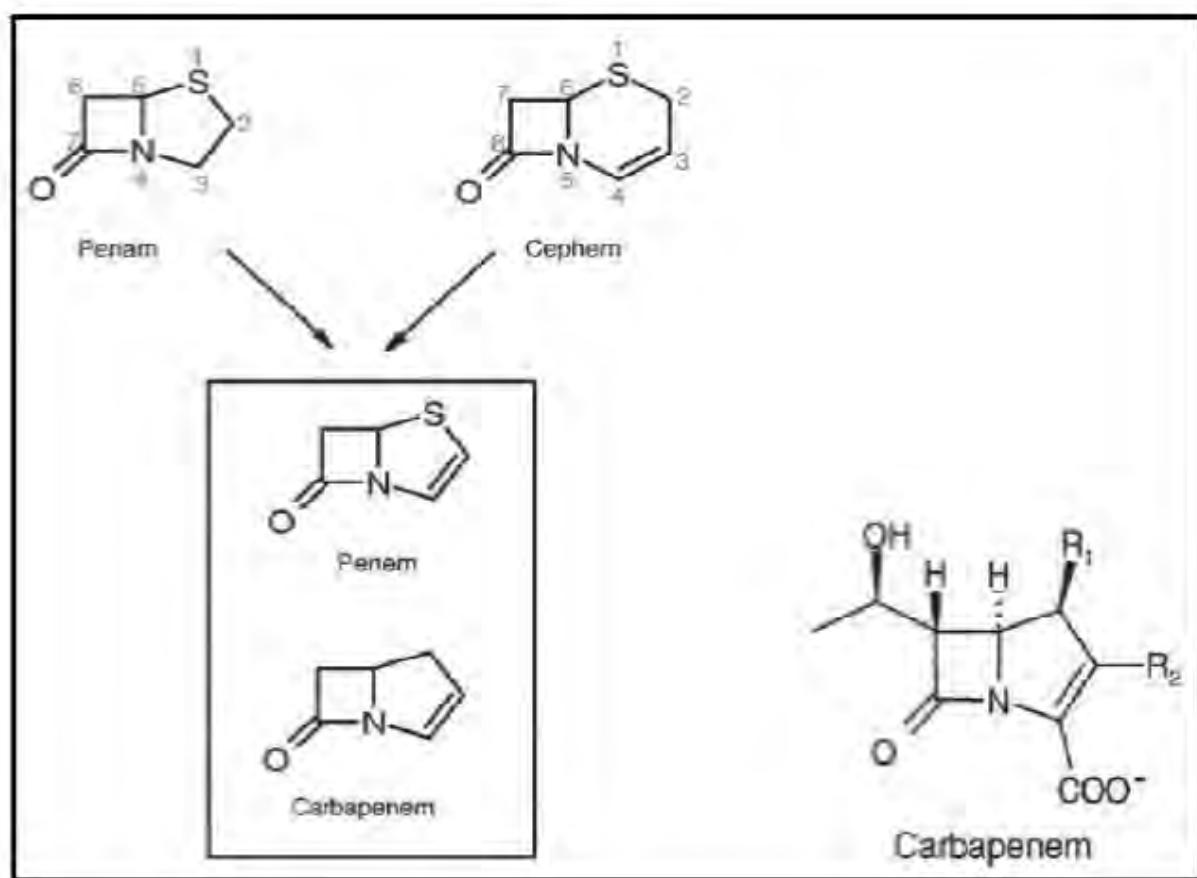


Figure 1 : Structure générale des Carbapénèmes [16]

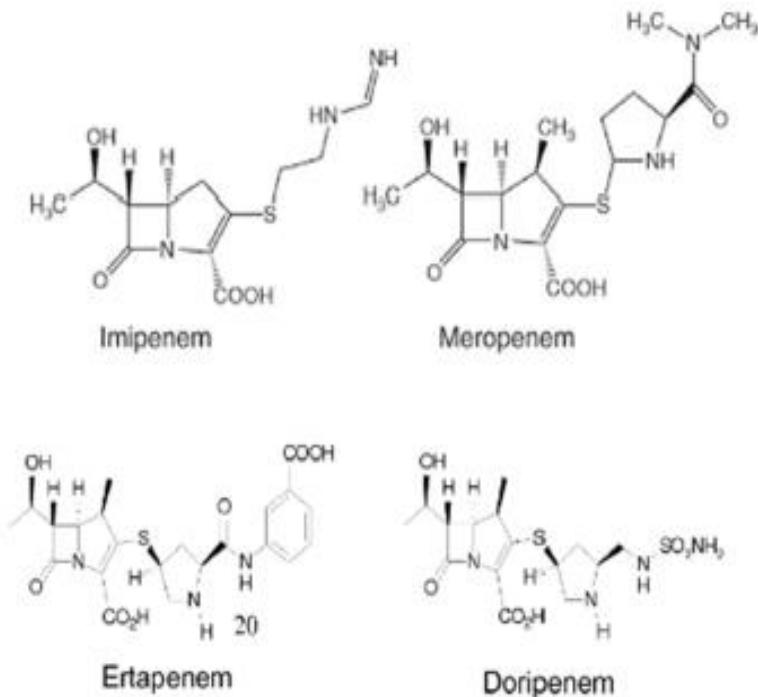


Figure 2 : Structures chimiques des carbapénèmes [18]

2.3. Propriétés pharmacocinétiques

Elles sont réparties en deux catégories selon leur taux de liaison aux protéines :

- Catégorie 1 : forte liaison aux protéines (80-90%)

L'Ertapénème constitue à elle seule cette catégorie. Sa demi-vie étant de quatre heures, on l'administre en une seule dose quotidienne ;

- #### ➤ Catégorie 2 : forte liaison aux protéines (2 à 20%)

On trouve là l'Imipénème, le Méropénème et le Doripénème. Leur demi-vie étant environ d'une heure, leur administration se fera en plusieurs doses journalières [19].

Leur diffusion est adéquate dans la majorité des tissus, mais il existe des variations interindividuelles et tissulaires importantes [19]. L'élimination se fait essentiellement par voie rénale [19].

2.4. Mécanisme d'action des carbapénèmes

Comme les autres bétalactamines, les carbapénèmes exercent leur activité bactéricide en se liant préférentiellement aux Protéines de Liaison des Pénicillines (PLP) de type PLP1a, PLP1b et PLP2. Ils induisent ainsi une inhibition de l'étape de transpeptidation nécessaire à la synthèse du peptidoglycane, constituant principal de la paroi bactérienne [20].

2.5. Spectre d'activité [19,21]

Il couvre les bactéries à Gram négatif et à Gram positif incluant les bactéries aérobies et anaérobies.

Cependant, ils sont inactifs sur *Stenotrophomonas maltophilia* (par production naturelle d'une métallo-bêta-lactamase), *Staphylococcus aureus* méti-R et *Enterococcus faecium*.

2.6. Mécanismes de résistance des bactéries aux carbapénèmes [22]

Il s'agit de ceux développés par toute bactérie pour échapper à l'action d'une bétalactamine, à savoir :

- Modification des sites de liaison aux PLP ;
- Réduction de la perméabilité membranaire ;
- Efflux actif ;
- Inactivation enzymatique

Le mécanisme qui nous intéresse ici et qui fait l'objet du chapitre 3 du Rappel bibliographique, est l'inactivation enzymatique des Carbapénèmes par des enzymes dites carbapénémases. Elles sont produites essentiellement par les entérobactéries telles *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella* et les BGN comme *A. baumannii*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*.

3. Carbapénémases

3.1. Types de carbapénèmases

L'émergence de ces enzymes a entraîné des difficultés dans le traitement des BMR car les Carbapénèmases constituent les molécules les plus actives de l'arsenal thérapeutique contre la multirésistance bactérienne [16].

Les carbapénèmases sont codées par des gènes situés sur des éléments génétiques mobiles comme les plasmides, les transposons ; cela facilite leur diffusion à large échelle et rend leur maîtrise plus complexe [29].

Différentes classifications ont été proposées dont celle d'Ambler dans laquelle l'ensemble des Bétalactamases (y compris les Carbapénèmases) sont regroupées en quatre catégories ou classes :

➤ Classe A

Ce sont des Pénicillinases de type sérine protéases ; elles sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam ;

➤ Classe B

Elle renferme les Métalloenzymes ; leur site actif contient un ion zinc. Elles sont résistantes à l'acide clavulanique mais sont inhibées par l'Acide Ethylène Diamine Tétra acétique (EDTA) ;

➤ Classe C

Ici sont regroupées les Céphalosporinases insensibles à l'acide clavulanique mais inhibées par la Cloxacilline ;

➤ Classe D

Les Oxacillinases hydrolysant la Cloxacilline sont logées ici ; elles sont peu inhibées à l'acide clavulanique.

On retrouve les Carbapénèmases au sein des Classes A, B et D d'Ambler. Elles sont définies par leur capacité à hydrolyser au moins une Carbapénème et non pas par leur structure de base [31]. Les principales carbapénèmases produites par les BGN et ayant diffusées partout dans le Monde sont répertoriées dans le **Tableau I**.

Tableau I: Carbapénèmases à diffusion géographique produites par les bacilles à Gram négatif [32, 33, 34, 35,36]

symbole	Nom	Espèces impliquées	Diffusion géographique
Classe A GES	Guiana Extended Spectrum	Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i>	Europe, Amérique du sud, Asie, Afrique
	IMI Imipenem-hydrolyzing β -lactamase	Entérobactéries	Amérique du Nord, Asie
	KPC Klebsiella pneumoniae carbapénemase	Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie
	NMC Not metalloenzyme carbapenemase	Entérobactéries	Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud
	SME Serratia marcescens enzyme	Entérobactéries	Europe, Amérique du Nord
Classe B GIM	German imipenemase	<i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	Europe
	IMP Active on imipenem	Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie, Australie
	NDM New Delhi metallo- β -lactamase	Entérobactéries, <i>Acinetobacter</i>	Europe, Amérique du Nord, Asie, Australie, Afrique
	SIM SPM Seoul imipenemase Sao Paulo metallo- β -lactamase	<i>Acinetobacter</i> , <i>Pseudomonas</i>	Asie, Amérique du Sud
	VIM Verona integron-encoded metallo- β -lactamase	Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie, Australie, Afrique
Classe D OXA-48	Oxacillinase	Entérobactéries	Europe, Amérique du Sud, Asie, Afrique
	OXA-23	Entérobactéries, <i>Acinetobacter</i>	Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie, Australie, Afrique

3.2. Méthodes de détection des carbapénèmases

En pratique courante, c'est après avoir remarqué une réduction du diamètre d'inhibition autour d'un disque de carbapénème, que l'on se sert de différentes méthodes pour identifier

éventuellement une production de carbapénèmases [16]. Ces méthodes sont soit phénotypiques, soit génotypiques.

3.2.1. Méthodes phénotypiques

Celles couramment utilisées sont : le test de Hodge modifié, le E-test et les tests biochimiques.

3.2.1.1. Test de Hodge [29,37]

Il a été mis initialement au point pour détecter les pénicillinases. La version modifiée est utilisée pour la détection des carbapénèmases ; mais il ne fournit pas d'information sur le type de carbapénémase détecté.

Le principe repose sur l'inactivation d'un carbapénème par une bactérie productrice de carbapénémase. La production de carbapénémase est objectivée par une déformation de la zone d'inhibition autour d'un disque d'ertapénème (ERT) de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 le long des stries correspondant au témoin positif et à la souche test (ici *K. pneumoniae* produisant OXA-48). La zone d'inhibition de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 reste inchangée au contact de la strie correspondant au témoin négatif (**Figure 3**).

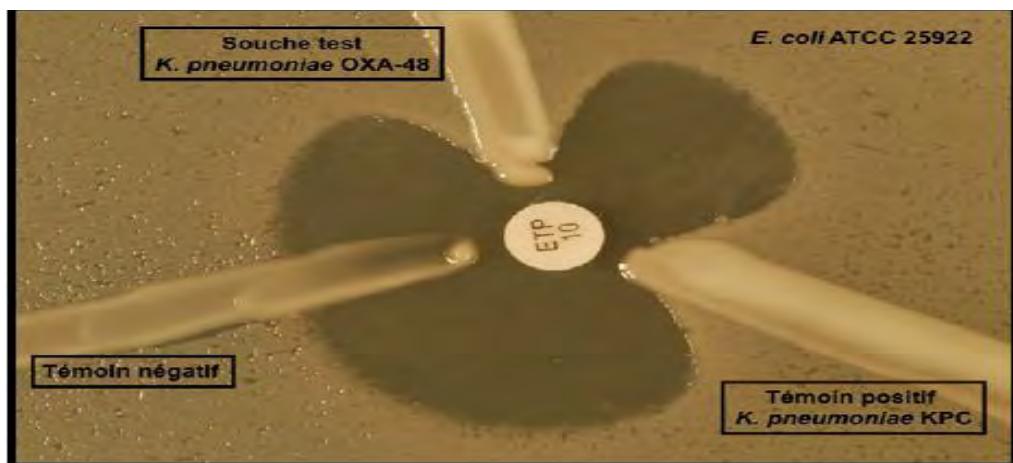


Figure 3 : Test de Hodge modifié [21]

3.2.1.2. Méthode du E-test ou disques combinés

Ce test, encore appelée disque combiné, est basé sur la synergie entre les inhibiteurs de MBL comme l'EDTA et les carbapénèmes ; en effet, l'EDTA a la capacité de complexer le zinc et par conséquent d'inhiber l'action de la carbapénémase.

Il permet la détection spécifique des souches productrices de Métalloenzymes (MBL). On peut le réaliser à l'aide de disques (test de synergie sur double disques ou test de disque combiné) ou de bandelettes (E-test MBL, Bio Mérieux).

D'autres types de bandelettes sont disponibles ; ils combinent le Méropénème et l'acide boronique dont l'effet inhibiteur est connu bien que son mécanisme d'action ne soit pas élucidé. Les enzymes détectées sont de type KPC ou d'autres de la Classe A [37].

3.2.1.3. Tests biochimiques

Un répond bien aux besoins actuels : c'est la recherche d'une modification du spectre d'action d'un carbapénème sous l'effet d'une carbapénémase. Il s'agit d'une application de la technique de spectrométrie de masse dite *Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight* (MALDI-TOF).

Elle consiste à mettre en contact pendant 2-3 heures, la souche à tester avec une solution de carbapénème ; le pic correspondant au carbapénème testé disparait alors qu'apparaît celui correspondant au(x) produit(s) d'hydrolyse de ce même carbapénème [38].

3.2.1.4. Méthode du milieu gélosé avec inhibiteurs

Elle permet une détection simple et rapide des EPC, notamment dans le cadre de prélèvements de dépistage [39]. Leur spécificité et leur sensibilité ne sont pas excellentes.

Les milieux de culture comme le ChromID ESBL® (Bio Mérieux), contenant une céphalosporine de 3^{ème} génération (C3G), mis au point pour détecter les bactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE), peuvent se révéler utiles pour détecter les carbapénémases de classe A et B ; mais en aucun cas les carbapénémases de classe D dont la

sensibilité aux C3G est conservée (sauf en cas d'association à une BLSE ou à une céphalosporinase).

D'autres milieux contenant des carbapénèmes ont été commercialisés : Chromagar KPC® [35].

3.2.2. Méthodes génotypiques ou moléculaires

Seuls les tests recourant à la Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) suivie du séquençage et/ou de l'hybridation sur puces à ADN permettent, à l'heure actuelle, de caractériser de façon précise, les carbapénèmases.

Elles sont réalisées en routine dans les Laboratoires cliniques spécialisés ou non, afin de pallier les insuffisances de la détection phénotypique. Les kits commerciaux disponibles sont par exemple : GeneXpert Carba-R, Cepheid, Check-Direct, Check-points.

Signalons que les carbapénèmases de classe D ne sont pas détectées par les méthodes phénotypiques ; donc, tout résultat négatif pour les enzymes des classes A ou B doit être exploré par les méthodes génotypiques [41].



DEUXIEME PARTIE :

TRAVAIL EXPERIMENTAL

1. Cadre - Période de l'étude

1.1. Cadre de l'étude

Elle a été menée au Centre Hospitalier National d'Enfants Albert Royer (CHNEAR) de Dakar :

- Les échantillons de l'environnement de l'Unité de Néonatalogie ont été collectés ;
- Ils ont été analysés au Laboratoire du CHNEAR en vue d'isoler les souches utilisées ayant fait l'objet de l'étude.

1.2. Période de l'étude

Ce travail a couvert les mois de novembre 2014 et juillet 2017 (étude prospective). Durant cette période, l'isolement et l'identification des souches de même que la recherche des carbapénémases ont été réalisés concomitamment.

2. Matériel – Méthodes de l'étude

Il s'agit des échantillons de l'environnement, des souches bactériennes isolées à partir de ces échantillons et du matériel d'utilisation courante dans les laboratoires hospitaliers de Bactériologie. Les méthodes de travail ont varié selon les étapes du travail.

2.1. Matériel de l'étude

➤ Echantillons de l'environnement

Plusieurs échantillons ont été collectés au niveau de l'unité, il s'agissait de :

- ✓ Prélèvements de surface (couveuses, matelas, tables soins et chevet)
- ✓ Air des salles (Réanimation, Grande, consultation et Kangourou)
- ✓ Echantillons de solutés, médicaments (eaux couveuses, biberon, réfrigérateur, aspirateur, sonde d'aspiration et filtre compresseur ; alcool, sérum salé, glucosé ; célesténe, lasilix, caféine ; lait en poudre).

➤ Souches de l'étude

Nous avons recherché la production de carbapénémase sur 29 isolats de BGN résistants à l'ertapénème.

Quant aux souches de référence ou souches Témoins incluses dans l'étude, il s'agissait de :

- *Escherichia coli* ATCC 25922 ;
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1705 (souches BLSE+) ;
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1706 (souches sauvages)

➤ Matériels de laboratoire

La liste du matériel utilisé pour la collecte et l'ensemencement des échantillons environnementaux d'une part, de même que ceux employés pour isoler, identifier, tester la sensibilité aux antibiotiques et détecter la production de carbapénémases d'autre part est donnée en annexe:

Les milieux préparés étaient conservés à +4°C et ramenés à la température ambiante avant leur utilisation.

Les antibiotiques suivants ont été testés :

- Bétalactamines : AMX, AMC, PIP, TIC, TTC, CF, CFR, CFX, CTX, CAZ, CRO, CFP, IPM, ERT ;
- Aminosides : GM, TOB, AK ;
- Quinolones : CIP, NOR ;
- Sulfamides et Associés : SXT.

2.2. Méthodes de l'étude

➤ Collecte et culture des échantillons de l'environnement

- ✓ la méthode d'écouvillonnage : Un écouvillon stérile est préalablement humidifié avec de l'eau physiologique stérile puis frotté sur une surface en stries parallèles et rapprochées.
- ✓ Ont été aussi prélevés tous les solutés trouvés sur place, les médicaments et les aliments (exemple : lait en poudre) en cours d'utilisation.
- ✓ Prélèvement microbiologique de l'air : des boîtes de Pétri (MH et EMB) sont ouvertes à température ambiante au niveau des différentes zones concernées, puis refermées 1H après.

Les échantillons ont été transportés au laboratoire, un bouillon nutritif (BCC) a été ajouté dans les écouvillons, solutés et aliments, puis incubé à 37°C pendant 24h.

A partir des bouillons troubles, nous avons ensemencé à l'aide d'une anse de platine une gélose MH et une gélose EMB qui ont été incubées à 37°C pendant 24H à l'étuve.

➤ Identification des isolats - Antibiogramme standard

- **Technique d'Identification :**

L'identification des souches de bacilles à Gram négatif a été réalisée selon les critères classiques d'identification : caractères macroscopiques, microscopiques, culturaux et biochimiques.

Pour les BGN non fermentaires, seules les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont pu être identifiées.

- **Test de sensibilité aux antibiotiques :**

Nous avons pratiqué la technique de diffusion de l'antibiotique en gélose ou Antibiogramme standard. L'inoculum bactérien est préparé en eau physiologique stérile puis diluer au 1/10^{ème} et ajusté à 0,5 Mac Farland selon les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM 2012). Il est ensemencé à la surface de la gélose Mueller-Hinton (MH) coulée en boîte de Petri de 90mm de diamètre. Après séchage, les disques des antibiotiques choisis sont déposés à l'aide d'un distributeur. Les boîtes sont incubées à +37°C, en atmosphère aérobie, pendant 24H.

➤ **Critères d'inclusion des isolats pour la détection des carbapénèmases**

Vingt-neuf (29) souches bactériennes isolées et identifiées ont été choisies pour la réalisation du Test de Hodge modifié afin de savoir si elles produisaient oui ou non une carbapénèmase. Les critères de ce choix étaient, d'après les données de l'ABG standard :

- Une diminution du diamètre d'inhibition autour du disque d'ERT : diamètre inférieur à 25mm ;
- Sensibilité « intermédiaire » à l'IMP et/ou à l'ERT ;
- Résistance à l'IMP et/ou à l'ERT.

➤ **Critères de non inclusion**

- Un diamètre d'inhibition autour du disque d'ERT supérieur à 25mm ;
- Une Sensibilité à l'IMP et/ou à l'ERT ;

➤ **Détection des carbapénèmases : Test de Hodge modifié**

Nous avons préparé un inoculum à partir de la souche d'*E. coli* ATCC 25922 ; il a été dilué au 1/10^{ème} afin d'obtenir une Densité Optique (DO) égale à 0.5 Mc Farland. Puis, à l'aide d'un écouvillon, l'inoculum a été ensemencé sur une gélose MH coulée en boîte de Pétri de 90mm.

Ensuite, un disque d'ERT chargé à 10 µg était déposé au centre de la gélose. Les souches à tester étaient ensemencées chacune de manière radiale à partir du disque d'ERT jusqu'au bord de la boîte de Pétri. Deux souches témoins par rapport à la production de carbapénèmase (Témoin négatif et Témoin positif) ont aussi été ensemencées de manière radiale sur la même boîte pour faciliter l'interprétation.

Après 18-24H d'incubation à +37°C, la présence d'une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'Ertapénème au contact de la souche testée est interprétée comme un résultat positif.

Ce test détecte simplement la production de carbapénèmases, sans possibilité d'en identifier formellement le type.

3. Résultats de l'étude

3.1. Prévalence des BMR isolés selon les zones de prélèvements

Au total, 79 souches de Bacilles Gram négatif ont été dans le service de Néonatalogie, avec 39 BMR soit 49,36% comme le montre le **tableau II**.

Les BMR ont été le plus retrouvés, en valeur relative, dans la salle de réanimation avec près de 61, 29%.

Tableau II : Prévalence des BMR isolés

Site prélèvement	Nombre de BGN	Nombre de BMR	Fréquence (%)
Salle Réa	31	19	61,29
Grande Salle	15	07	46,67
Salle consultation	07	02	28,57
Salle SMK	09	06	66,67
Salle compresseur	05	03	60
Divers (médicaments, solutés, aliments)	12	02	16,67
Total	79	39	49,36

3.2. Répartition des BMR selon les espèces

Les BMR les plus fréquemment retrouvées étaient les entérobactéries (Figure 4) avec près de 71,80%. Parmi elles, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter spp* étaient les souches les plus isolées avec respectivement 53,57% et 42,85%.

Des bacilles à Gram négatif non fermentaires ont été aussi isolés ; parmi elles, 54,55% étaient des *Pseudomonas aeruginosa*.

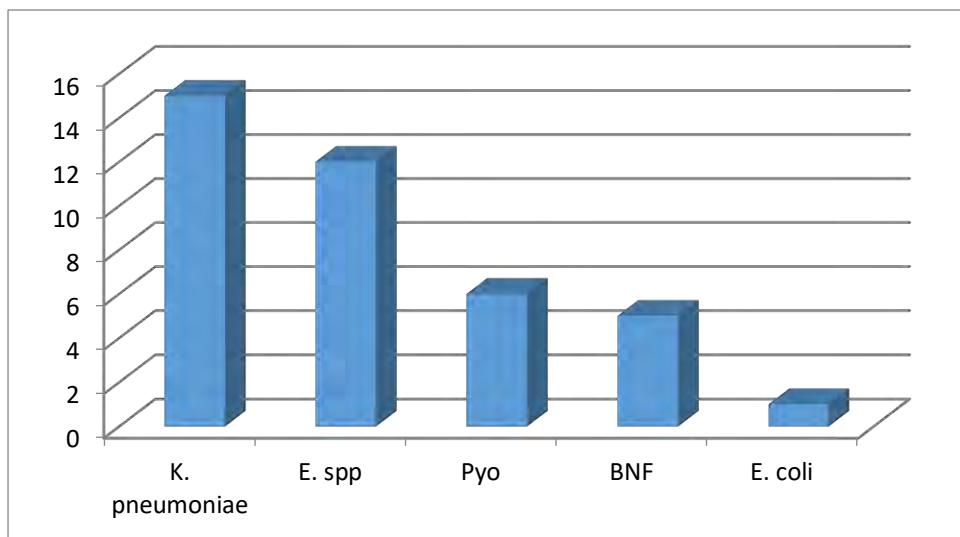


Figure 4 : Répartition des BMR selon les germes

3.3. Répartition des BMR par site d'isolement

Le Tableau III nous montre la répartition des BMR par site d'isolement. *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter spp* ont été pratiquement retrouvés dans tous les échantillons de l'environnement.

Tableau III: Répartition des BMR par site d'isolement

BMR isolés	Site de prélèvement
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Table réanimation, couveuse, Salle kangourou, salle RAM, salle consultation, eau couveuse, eau filtre compresseur, eau aspirateur, eau sonde aspirateur
<i>Enterobacter spp</i>	Couveuse, cocotte minute, table réa, eau couveuse, salle Kangourou, eau aspirateur, eau filtre aspirateur, eau barbotteur
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Couveuse, eau couveuse, eau filtre compresseur, eau aspirateur, eau réfrigérateur
Bacilles Gram négatif non fermentaires	Eau trempage, couveuse, table réa, salle kangourou, grande salle
<i>Escherichia coli</i>	Grande salle

3.4. Etude de la sensibilité des BMR aux antibiotiques

3.4.1. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des BGN non fermentaires

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré un profil assez homogène. Nous notons des résistances à l'imipénème de près de 23%, observées chez les souches de BGN non fermentaires autres que *Pseudomonas aeruginosa*. Quant à ces dernières, elles étaient toutes sensibles à l'imipénème et à l'aztréonam.

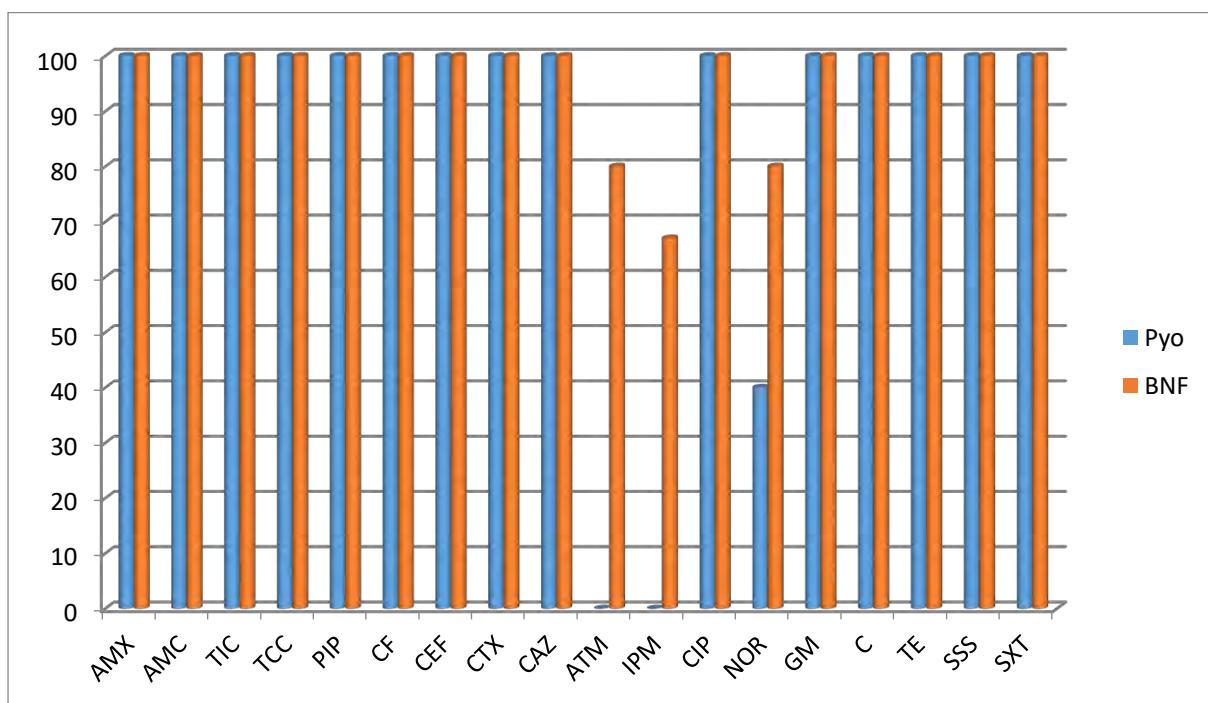


Figure 5 : Pourcentage de Résistance des souches de Bacilles Gram négatif non fermentaires aux antibiotiques

3.4.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des Enterobactéries

Les données de l'antibiogramme ont montré un profil homogène de résistance aux antibiotiques pour ces 28 entérobactéries (Figure 6). Parmi elles, 15 produisent une Béta-lactamase à Spectre Elargi : 9 *Enterobacter spp* et 6 *Klebsiella pneumoniae*.

Tous les isolats étaient sensibles à l'Imipénème uniquement.

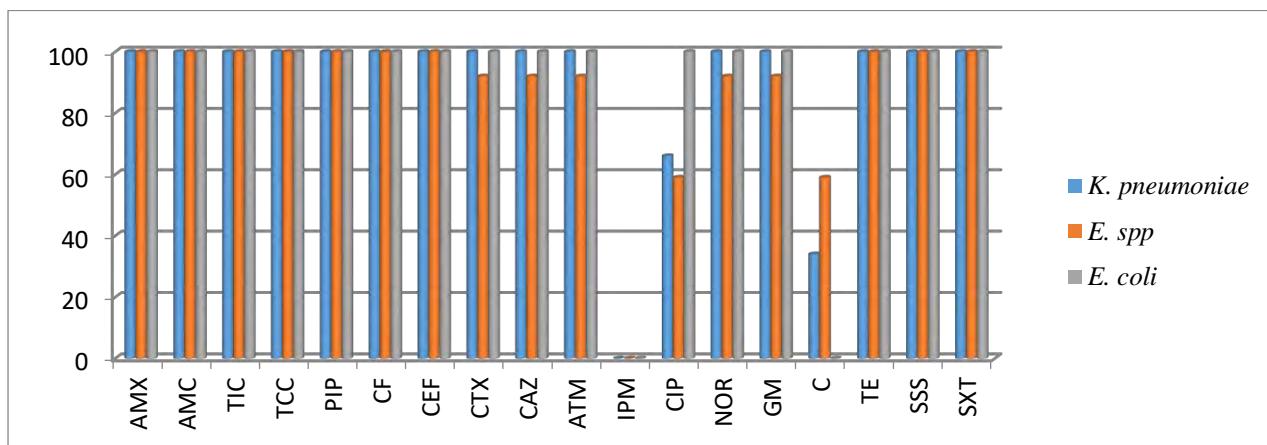


Figure 6 : Pourcentage de Résistance des Entérobactéries aux antibiotiques

3.5. Souches suspectes de production de carbapénémase

Parmi les 39 BGN multi-résistants, 29 isolats bactériens susceptibles de produire une carbapénémase ont été retenus dans le cadre de ce travail. Il s'agissait de 19 entérobactéries (65,5%) et 10 BGN non fermentaires (34,5%). *K. pneumoniae* avec un taux d'isolement de 41,37%, a été l'espèce prédominante (**Tableau VI**).

Tableau IV : Répartition globale des isolats suspects de production de carbapénémase

Isolats bactériens	Nombre	Pourcentage (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	41,37
<i>Enterobacter spp</i>	6	20,68
Bacilles Gram négatif non fermentaires	5	17,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	17,25
<i>Escherichia coli</i>	1	03,45
Total	29	100

3.6. Répartition annuelle des souches suspectes de produire une carbapénémase

En novembre 2014, 11 isolats ont été obtenus ; il s'agit de 5 *K. pneumoniae*, 3 *Enterobacter*, 2 *P. aeruginosa* et 1 BGN non fermentaire. Au courant du mois de juillet 2017, les 18 souches

déTECTées étaient *K. pneumoniae* (7), *Enterobacter* (3), *E. coli* (1), *P. aeruginosa* (3), BGN non fermentaires (4). *E. coli* n'a été retrouvé qu'en 2017.

3.7. Souches productrices de carbapénémase

➤ Profils des 2 isolats producteurs de carbapénémase

Seule deux isolats (6,89%) sur les 29 testés produisaient une carbapénémase. Toutes deux appartenaient au groupe des BGN non fermentaires ; il s'agissait d'une souche de *P. aeruginosa* et une souche de BGN non fermentaire qui n'a pu être complètement identifiée.

Elles provenaient d'échantillons de l'environnement, respectivement les surfaces des couveuses (*P. aeruginosa*) et l'eau utilisée pour tremper certains matériels de soins (BGN non fermentaire).

➤ Profil de sensibilité des 2 isolats producteurs de carbapénémase

Les données de l'ABG standard étaient relativement homogènes pour les deux souches productrices de carbapénémase. Elles étaient les seuls isolats ayant montré une résistance de contact vis-à-vis du disque d'Ertapénème ; en sus, le BGN non fermentaire résistait à l'Imipénème.

- ***P. aeruginosa***

Il était sensible à l'Imipénème et à l'Amikacine ; il n'était pas inhibé par : AMX, AMC, TIC, TCC, PIP, CF, CFX, CTX, CAZ, ATM, NA, NOR, CIP, TM, GM, C, TE, SSS et SXT.

- **BGN non fermentaire**

Cet isolat n'était sensible qu'à l'Amikacine ; il n'était inhibé par aucun autre antibiotique testé.

4. Commentaires – Discussion

Dans notre étude, nous avons trouvé une prévalence globale de près de 49,36% de détection de BMR dans l'environnement. Les souches BMR isolées au cours de notre étude, sont issues majoritairement du service de réanimation pédiatrique avec un pourcentage de 61,29%. En effet, les patients hospitalisés au sein des unités de soins intensifs présentent plus de risques, vu la durée d'hospitalisation (qui est généralement longue), la sévérité de la maladie, l'usage d'un certain nombre de dispositifs invasifs (sondes, cathéters, intubation...), et les traitements antibiotiques multiples notamment avec les céphalosporines à large spectre [42, 43].

Sur les 39 BMR isolées, 28 étaient des entérobactéries, ce qui correspond à une prévalence de 71,80%. *Klebsiella pneumoniae* est le principal BMR retrouvé dans notre étude avec une prévalence de 38,46%, suivi d'*Enterobacter spp* avec une prévalence de 30,16 %.

Face à l'apparition de nouvelles résistances aux antibiotiques chez les BGN, l'évaluation de la sensibilité vis à vis de ces antibiotiques est devenue indispensable. Comme annoncé dans la littérature, l'Imipénème, active dans 90% des BMR, reste l'antibiotique de choix dans le traitement des infections hospitalières. Elle était active sur plus de 90% de nos souches [43].

Il est à noter que l'augmentation du nombre d'Entérobactéries productrices de BLSE a entraîné l'utilisation abusive des carbapénèmes dans de nombreux pays, avec pour conséquence l'émergence de la résistance à ces antibiotiques [43].

Parmi les 29 souches susceptibles de produire une carbapénémase, seules 2 en produisaient soit 6,89%, donc un faible taux de souche secrétrice de carbapénémase. C'est la première fois à notre connaissance que la prévalence de bactéries productrices de carbapénèmases est documentée dans l'environnement d'une unité de Néonatalogie au Sénégal, bien qu'il y ait déjà des recherches effectuées dans des échantillons cliniques aussi bien dans ce pays que dans d'autres [44, 45]. De nombreuses études réalisées en Europe se sont intéressées sur la prévalence des Bactéries productrices de carbapénèmases. Selon le centre européen de la prévention et de contrôle des maladies (ECDC), la prévalence moyenne des Bactéries productrices de carbapénèmases rapportées en Europe en 2012, était d'environ de 6,2%. Une grande variabilité entre les pays a été observée et les pourcentages ont varié de <1% (tels qu'en Finlande, Islande, Irlande, Suède, Lituanie, Luxembourg, l'Allemagne, Croatie,

Danemark, Espagne, Portugal), à >15% Italie et Chypre et jusqu'à 60,5% en Grèce [45]. Notre étude ne nous a pas permis de donner le type de carbapénèmases circulant dans l'environnement de l'unité de Néonatalogie du CHNEAR par manque de moyens (réactifs et appareillage, nous n'avons pas pu préciser la nature (type) de carbapénèmases produite par nos deux isolats..

Les souches carbapénèmases positives isolées dans notre étude étaient toutes des Bacilles Gram négatif non fermentaires dont une *Pseudomonas aeruginosa*.

Nous n'avons pas retrouvé, comme rapporté dans la littérature, des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de carbapénèmases [45], alors qu'elle était la bactérie suspecte de produire une carbapénèmase la plus fréquemment rencontrée.

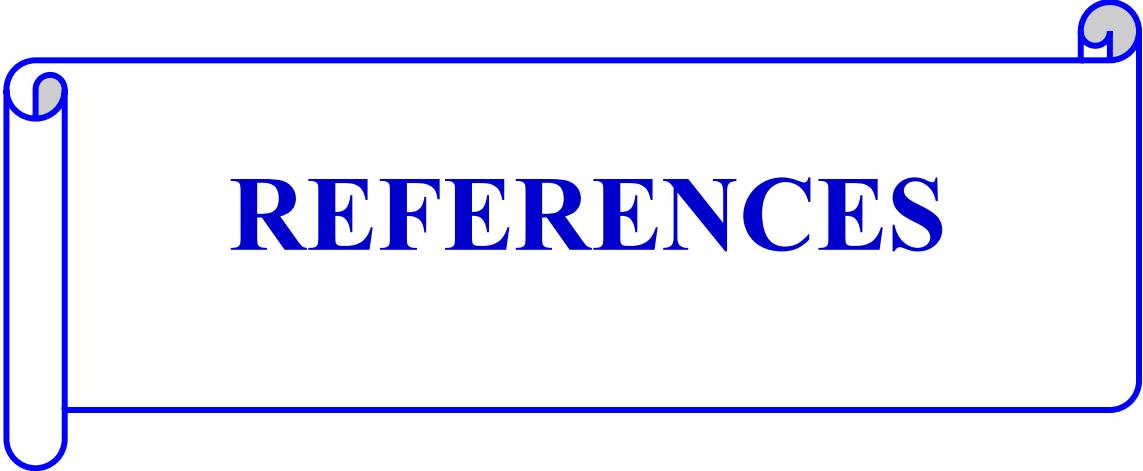
Notre étude a confirmé une résistance de 100% à l'ertapénème chez les bactéries productrices de carbapénèmases. Cette molécule est l'indicateur le plus fiable pour la détection de cette résistance.

CONCLUSION

La résistance aux carbapénèmes des bacilles à Gram négatif Multi-résistants, en particulier par production de carbapénèmases transmissibles, est un problème majeur de santé publique. En effet, les infections à bactéries productrices de carbapénèmases entraînent de véritables situations d'impasse thérapeutique et sont directement responsables d'une surmortalité.

Il convient évidemment de tout mettre en œuvre pour que cette situation soit la moins durable possible. Pour cela, des stratégies thérapeutiques et des moyens de préventions pour la maîtrise de la diffusion doivent être appliquées rigoureusement. Il convient également de limiter au maximum la pression de sélection et donc de maîtriser la prescription des carbapénèmes, grâce à la rédaction de recommandations d'une part, et à la présence de référents antibiotiques dans les hôpitaux, d'autre part.

Les carbapénèmes sont des molécules indispensables pour le traitement des infections à germes producteurs de BLSE, surtout dans le contexte actuel de diffusion massive des BLSE, mais sont des antibiotiques qu'il est nécessaire de préserver. Ce d'autant qu'il n'existe actuellement pas de perspective proche de mise sur le marché de nouveaux antibiotiques.



REFERENCES

1. **Boutika ben-Boubaker I, Ghazzi R.** Résistance bactérienne aux antibiotiques en Tunisie : Données 1993 à 2003. Rev Tun infectiol. 2007 ; **1**:5-11.
2. **Simon F, Kraemer P, De Pina JJ, Demortière E, Rapp C.** Le risque nosocomial en Afrique intertropicale Partie 2 : Les infections des patients. Med Trop 2007; **67** :197-203.
3. **Rodriguez-Villalobos H, Struelens MJ.** Résistance bactérienne par bétalactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. Réanimation 2006 ; **15** : 205-13.
4. **Aggoune-Khinache N, Bensersa D, Henniche FZ, Daoudi M, Abdouni MA, Chabani A, Tiouit D, Naim M.** *Pseudomonas aeruginosa* producteurs de métallo-béta-lactamases en Algérie. Médecine et maladies infectieuses 2009 ; **39** : 413-14.
5. **Minchella A, Molinari L, Alonso S, Bouziges N, Sotto A, Lavigne J-P.** Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. Pathologie biologie 2010 ; **58** : 1-6.
6. **Joly B, Reynaud A** ; Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic, Edition Techniques et Documentation 2007 ; pages 3-182.
7. **BIOMERIEUX SA. Api 20 NE Réf. 20 050.** Système d'identification des bacilles à Gram négatif 2004 : 1-4.
8. **Janda JM, Abbott SL.** Historical perspectives on the family Enterobacteriaceae. In the Enterobacteriaceae. Lippin cott raven publishers, Philadelphia. 1998: 1-7.
9. **Richard C, Keredjian M.** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Inst. Pasteur, 2ème éd. 1995 ; **2** : 22-6.
10. **Husson MO, Hamze M, Verhille S, Izard D.** *Pseudomonas* et *Burkholderia*. Précis de bactériologie clinique. Paris: Freney J éd. ESKA; 2000 : 1259-83.
11. **Schuster C.** *Pseudomonas* et apparentés. Syst. Microbiol : 2001 : 1-6.
12. **Diop R.** Standarisation et optimisation d'une microméthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires. Thèse Pharmacie, Dakar. 2001 ; N° 75.
13. **Carpentier JP, Morillon M, Petrognani, Cavallo JD.** Infection à bacilles pyocianique. EMC, Maladies infectieuses. 2003; 8-025-B50 : 1-23.
14. **Bergogne-Berezin E.** The increasing role of *Acinetobacter* species as nosocomial pathogens. Curr infect dis rep 2001; **3**: 440-4.
15. **Poirel L, Nordmann P.** Résistance aux bétalactamines chez *Acinetobacter baumannii* : Evolution et émergence de nouveaux mécanismes. Antibiotiques, 2006 : 100-107.

16. **BOUTET-DUBOIS A, PANTEL A, SOTTO A, LAVIGNE JP**, Les entérobactéries productrices de carbapénémases, Avril 2012, Alin & as : 1-5.
17. **Dalhoff A, Janjic N, Echols R**, Redefining penems. Biochemical pharmacology 71, 2006: 1 0 8 5– 1 0 95.
18. **Wolff M, Joly-Guillou ML, Pajot O**, Les carbapénèmes. Comparative reviews of carbapenems, 2009: S199-S208.
19. **Gauzit R, Gutmann L, Brun-Buisson C, Jarlier V, Fantin B**, *Recommandations de bon usage des carbapénèmes*. Antibiotiques, 2010 : 183-189.
20. **KriszPapp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA, Carbapenems: Past, Present, and Future**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2011: 4943–4960.
21. **Grall N, Andremont A, Armand-Lefèvre L**, Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse? Journal des Antifongiques, 2011.
22. **Carle**, La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Pharmactuel Vol. 42 Supplément 2, 2009 : 6-21.
23. **Fernández-Cuenca F, Martínez-Martínez L, Conejo MC, Ayala JA, Perea EJ, Pascual A**, Relationship between β -lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003: 565–574.
24. **Cattoir**, Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries, Pathologie Biologique 52, 2004 : 607–616.
25. **Pitout JDD, Hanson ND, Church DL, Laupland KB**, Population-Based Laboratory Surveillance for *Escherichia coli*-Producing Extended-Spectrum β -Lactamases: Importance of Community Isolates with blaCTX-M Genes. Clinical Infectious Diseases, 2004: 1736–41.
26. **Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S**, Transferable Resistance to Cefotaxime, Cefoxitin, Cefamandole and Cefuroxime in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*, Infection 11 Nr. 6, 1983: 35-37.
27. **Siroy A, Molle V, Lemaître-Guillier C, Vallenet D, Pestel-Caron M**, Channel Formation by CarO, the Carbapenem Resistance-Associated Outer Membrane Protein of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005: 4876–4883.

- 28. Ochs MM, Bains M, Robert, Hancock REW**, Role of Putative Loops 2 and 3 in Imipenem Passage through the Specific Porin OprD of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2000;1983–1985.
- 29. Ghita Y**, Les enterobactéries productrices de carbapenemases: étude prospective. Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès : s.n., Juin 2013.
- 30. Doret L, Poirel L, Nordmann P**, Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmases. feuillets de Biologie, Mai 2013.
- 31. AMBLER**, The stucture of beta-lactamases., *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 1980, B289: 321-331.
- 32. Nordmann P, Poirel L, Toleman MA, Walsh TR**, Does broad-spectrum b-lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria?, *J Antimicrob Chemother* , 2011: 689–692.
- 33. Doret L, Poirel L, Nordmann P**, Rapid Identification of Carbapenemase Types in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp. by Using a Biochemical Test. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* , 2012: 6437–6440.
- 34. Hammoudi D, Moubareck CA, Sarkis DK**, How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. *Journal of Microbiological Methods*, 2014: 106-118.
- 35. Nordmann P, Poirel L, Walsh TR, Livermore DM**, The emerging NDM carbapenemases. *Trends in Microbiology*, 2011.
- 36. Walther-Rasmussen J, Høiby N**, *OXA-type carbapenemases*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2006: 373–383.
- 37. Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, Galani I, Giske CG, Gniadkowski M, Malamou-Lada E, Martinez-Martinez L**, *Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens:detection and surveillance issues*. *Clin Microbiol Infect* , 2010 : 112–122.
- 38. CNR, INSERM, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud**. Note technique : Détection des souches d'entérobactéries productrices d'une carbapénémase. Mars 2015.
- 39. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V**, Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012: 432–438.
- 40. Nordmann P, Girlich D, Poirel L**, Detection of Carbapenemase Producers in Enterobacteriaceae by Use of a Novel Screening Medium. *Journal of Clinical Microbiology* , 2012: 2761–2766.

- 41. Giske CG, Gezelius L, Samuelsen O, Warner M, Sundsfjord A and Woodford N,** A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo-β-lactamases and KPC in Klebsiella pneumoniae with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. *Clin Microbiol Infect*, 2011, 17: 552–556.
- 42. Ang JY, Ezike E, Asmar BL.** Antibacterial résistance; *Indian J. Pediatr.* 2004 ; 71 : 229-239.
- 43. Lefort A, Nicolas-Chanoine M;** Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et les céphalosporines de troisième génération en 2012 ; *Journal des Anti-infectieux* (2012) 14, 51-57.
- 44. Moquet O, Bouchiat C, Kinana A, Seck A, Arouna O, Bercion R, Breurec S, Garin B,** Class D OXA-48 Carbapenemase in Multidrug-Resistant Enterobacteria, Senegal. *Emerg Infect Dis.* 2011 Jan; 17(1): 143–144.
- 45. Surveillance report Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012.**



ANNEXES

1. Matériels pour collecte

1.1. Air

- Gélose Mueller Hinton
- Gélose Eosin Methylene Blue

1.2. Ecouvillonnages des surfaces

- Ecouvillons
- Eau Physiologique
- Gants

1.3. Eaux, solutés, médicaments et aliments

- Pipettes plastiques stériles
- Tubes stériles

2. Matériel pour l'isolement, l'identification et l'antibiogramme

- Pipettes Pasteur
- Disques d'oxydase
- Milieu uréé-indole
- Milieu Hajna-Kligger
- Citrate de Simons
- Gélose Mueller Hinton
- Gélose Eosine Methylene Blue
- Disques d'Antibiotiques

- Réactifs de Kovacs
- Solution de Perchlorure de Fer
- Disque d'ONPG

3. Matériel pour le Test de Hodge Modifié

- Eau Physiologique
- Tubes stériles
- Etalon Mac Farland à 0,5
- Souches de Références
- Gélose Mueller Hinton
- Ecouvillons
- Disque d'Ertapéném