

LISTE DES ABREVIATIONS

° C	: Degré celcius
SLS	: Service Long Séjour
SMS	: Service Moyen Séjour
NP	: Non Précis
BLSE	: Bêta Lactamase à spectre Elargie
CHN	: Céphalosporine Haut Niveau
ECBU	: Examen Cytobactériologique des Urines
ITU	: Infection du Tractus Urinaire
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
CMB	: Concentration Minimale Bactéricide
TNF	: Tumor necrosis Factor
IL	: Interleukine
INF	: Interféron
Ag	: Antigène
Ac	: Anticorps
CLIN	: Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales

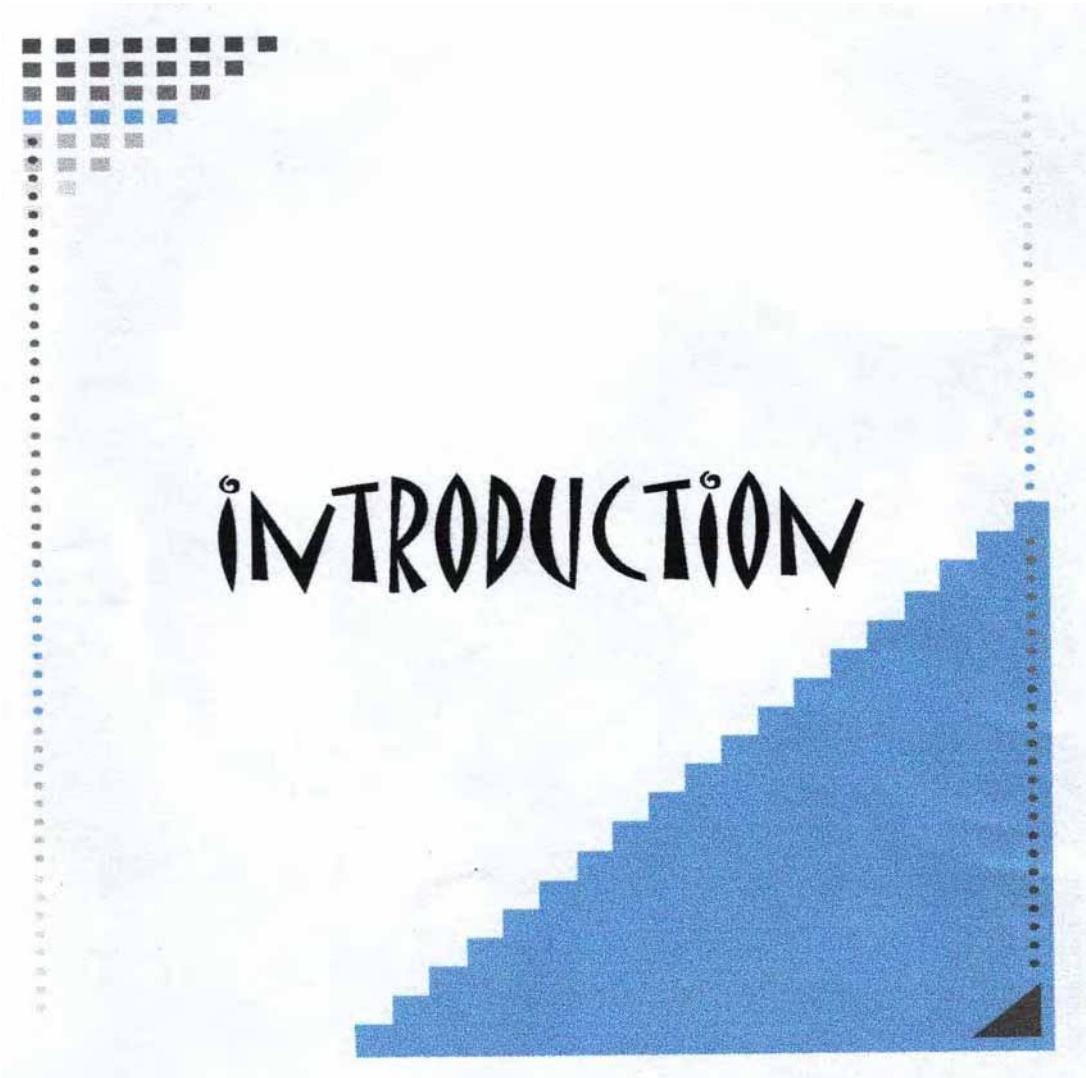
SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE	2
I- EPIDEMIOLOGIE	2
I-1 Définition de l'infection nosocomiale	2
I-1-1 Fréquence des infections nosocomiales	3
I-1-2 Gravités des infections nosocomiales	4
I-2 Réservoirs de germes.....	5
I-3 Sources et Modes de transmission	6
II- AGENTS PATHOGENES ET FACTEURS DE RISQUES.....	8
II-1 Agents responsables	8
II-2 Facteurs de risques	9
III- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE	10
III-1 Produits pathologiques	11
III-1-1 Généralités	11
III-1-1-1 Définition	11
III-1-1-2 Règles générales de l'examen bactériologiques des produits pathologiques	12
III-1-1-3 Résultats	14
III-1-2 Produits pathologiques étudiés	14
III-1-2-1 Sang	14
III-1-2-2 Urines	16
III-1-2-3 Pus	17

III-2 Manuportage et le matériel médical	18
III-3 Phénotype	19
III-3-1 Antibiotypie	19
III-3-1-1 Antibiogramme	19
III-3-1-2 Détermination de la CMI	20
III-3-2 Sérotypie	20
III-3-3 Biotypie	20
III-3-4 Lysotypie	21
III-3-5 Bactériocynotypie	21
III-3-6 Plasmide de résistance	22
III-3-7 Ribotypie	22
III-3-8 Toxinotypie	22
III-3-9 Zymotypie	23
III-3-10 Pulsotypie	23
III-4 Méthodes indirectes de diagnostic : Méthodes séro Immunologiques	23
III-4-1 Dosages des cytokines de l'inflammation : IL1, IL6, TNF alpha, INF gamma	24
III-4-2 Mise en évidence d'une réaction antigene-anticorps (Ag-Ac) invisible	24
IV- CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES.....	27
IV-1 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane.....	27
IV-2 Antibiotiques actifs sur les membranes	29
IV-3 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique	29
IV-4 Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques.....	30
IV-5 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates.....	31
IV-6 Antibiotiques anti tuberculeux	32
V- MECANISME DE RESISTANCE DES ANTIBIOTIQUES	32
V-1 Définitions	32

V-1-1 Notions de résistance	32
V-1-2 Type de résistance	33
V-1-2-1 Résistance naturelle	33
V-1-2-2 Résistance acquise	34
V-1-2-2-1 Mécanismes génétiques.....	34
V-1-2-2-2 Mécanismes biochimiques.....	36
DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL	40
I-MATERIEL	40
I-1 Cadre de l'étude	40
I-2 Patients éligibles.....	40
I-3 Matériel et Réactifs d'étude	40
I-3-1 Matériel de prélèvement.....	40
I-3-2 Matériel et Réactifs pour analyses.....	41
II- METHODES.....	43
II-1 Hémoculture.....	43
II-2 Identification des souches.....	46
II-3 Antibiogramme	47
II-4 Dépistage des bactéries multi résistantes.....	48
II-5 Délivrance des antibiotiques par la pharmacie	51
RESULTATS.....	53
I- POPULATION D'ETUDE.....	53
II -RESULTATS D'HEMOCULTURE.....	53
III- BACTERIOLOGIE.....	53
III-1 Répartition des souches isolées.....	53
III-2 Fréquence des cocci à gram positif	61

III-3 Fréquence des entérobactéries.....	62
III-4 Fréquence des bacilles à gram négatif non fermentaires.....	63
IV/ CONSOMMATION D'ANTIBIOTIQUES PAR LES SERVICES	64
 DISCUSSION.....	 75
 CONCLUSION.....	 80
 BIBLIOGRAPHIE	 83



INTRODUCTION

Les infections nosocomiales sont la rançon de l'hospitalisation et toutes les études réalisées jusqu'à ce jour, montrent le préjudice subit par les malades en terme de morbidité et de mortalité.

Si les infections septicémiques et bactériémiques ne viennent qu'au quatrième rang en terme de fréquence de survenue (après les infections urinaires, les infections broncho-pulmonaires, les infections du site opératoire), leur impact sur la prolongation de la durée de séjour, les dépenses de santé, et sur le pronostic vital est majeur.

Les bactériémies nosocomiales sont des infections sévères qui compliquent souvent un foyer infectieux primitif et peuvent entraîner le décès.

Ainsi les bactériémies constituent une cible prioritaire de la surveillance des infections nosocomiales (23)

Notre travail visait à apporter une contribution à ce sens :

- d'abord par la mesure de la répartition des souches isolées d'hémoculture.
- ensuite par la détermination de la fréquence d'isolement des germes isolés au niveau des services cliniques.
- enfin par l'évaluation de la survenue des bactéries multi résistantes en fonction de la consommation d'antibiotiques.

Pour cela, nous avons procédé à une enquête qui permet de déterminer la fréquence des souches. Elle été réalisée en collaboration avec le laboratoire de bactériologie et les services de chirurgie, médecine, réanimation et de la pédiatrie de l'hôpital Principal de Dakar

Notre plan va comporter deux parties :

- Une première va s'accentuer sur les généralités des infections nosocomiales et les mécanismes de résistances des antibiotiques.
- Une deuxième portera sur le travail personnel

1^{ERE} PARTIE

GENERALITÉS

I- EPIDEMIOLOGIE

I-1 DEFINITION DE L'INFECTION NOSOCOMIALE

Une infection nosocomiale est une infection acquise à l'hôpital (ou tout autre établissement de soins) et qui n'était ni en incubation, ni présente à l'admission du malade (**18, 38, 43,54**).

Cependant, pour différencier une infection nosocomiale d'une infection communautaire, un délai de 48 heures à 72 heures est retenu entre l'admission et le début de l'infection.

Pour les infections de la plaie opératoire, on accepte comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention.

Les infections nosocomiales peuvent être d'origine :

- ✓ Endogène : le malade s'infecte avec ses propres germes à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière.
- ✓ Exogène:
 - soit d'infection croisée, transmise d'un malade à l'autre par les mains ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical
 - soit d'infection provoquée par les germes du personnel porteur
 - soit d'infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, alimentation).

Ces infections sont caractérisées par leur fréquence et leur gravité.

I-1-1 Fréquence des infections nosocomiales

La fréquence des infections nosocomiales est assez élevée et varie d'un pays à un autre en fonction de multiples caractères parmi lesquels, on trouve (habitudes thérapeutiques, pression de sélection).

Ainsi, elle varie de 3,5% aux USA (**37**) à 10,2% en France (**58**). De plus leur prévalence au sein des établissements de soins varie selon les services d'hospitalisation (Tableau I) et les sites anatomiques sièges de l'infection.

Tableau I : Fréquence des infections nosocomiales selon le service d'hospitalisation (**28**)

Service	Psychiatrie	Pédiatrie	Chirurgie	Médecine	SLS	SMS	Urologie	Site opératoire
Fréquences en pourcentage	2,7	3,8	7	6,9	8,4	10,2	11,8	17,2

Ces différents types d'infections ont des fréquences variées selon le siège de l'infection

- Les infections urinaires
- Les infections de la plaie opératoire
- Les infections broncho-pulmonaires
- Les bactériémies

Tableau II : Répartition des sites d'infections nosocomiales en fonction des pays (**7, 11, 33,43**)

	Infections urinaires	Infections des sites opératoires	Infections respiratoires	Bactériémies	Infections de la peau et cathétters
USA	42%	23%	10%	5%	NP
France (TOULOUSE)	42%	33%	10,5%	6,5%	NP
France (TOURS)	17%	15%	20%	NP	15,5%
Algérie	29,3%	35,4%	12,2%	NP	22%

A partir de ces données on peut dire que les infections des sites opératoires et urinaires sont plus fréquentes ; ceci est démontre par des études récentes faites en France.

Elles touchent aussi bien le personnel que les malades ; mais la situation est plus préoccupante dans les pays en voie de développement comme le Sénégal où les données manquent.

I-1-2 Gravité des infections nosocomiales

La gravité des infections nosocomiales réside dans les grandes difficultés thérapeutiques qu'elles posent du fait de leur résistance fréquente aux antibiotiques et de leur survenue sur des terrains fragilisés par la maladie ou des actes invasifs.

Ces infections nosocomiales sont à l'origine d'une mortalité et d'une morbidité considérable.

La surmortalité induite par ces infections est encore mal évaluée, mais on estime actuellement qu'elles sont à l'origine d'au moins 10000 décès par *an* ; un chiffre comparable à la mortalité due à des accidents de la circulation en France (27).

Si les infections des plaies opératoires en urologie ne présentent pas de particularité par rapport aux autres types de chirurgies, l'incidence des bactériuries post-opératoires y est élevée, notamment après chirurgie prostatique.

Ces infections urinaires sont aussi associées à une surmortalité et une surmorbidité (49) qui, sans atteindre le niveau de celles des pneumopathies ou des bactériémies nosocomiales justifient néanmoins les efforts de préventions en raison de leur fréquence.

En dehors de la mortalité et morbidité, lorsqu'un patient acquiert une infection hospitalière son séjour à l'hôpital est prolongé de 3 à 7 jours en moyenne. A lui seul l'allongement du séjour hospitalier entraîne un surcoût

3900 à 9100 franc français (FF) par infection, soit 2 à 5 milliards francs chaque année en France (27)

I-2 RESERVOIR DE GERMES

L'hospitalisation va créer les conditions nécessaires à la trans-formation de la flore normale. C'est ainsi que l'antibiothérapie, qu'elle soit curative ou prophylactique, exerce une forte pression de sélection microbienne, aboutissant à une modification des équilibres au sein de la flore saprophyte.

A partir de cette flore remaniée, la dissémination va se faire avec enrichissement progressif du capital microbien hospitalier. Ainsi l'hôpital constitue un énorme réservoir de germes qui touche en premier lieu les malades du fait de leur immunodéfidence.

Les germes sont caractérisés par leur grande stabilité dans le milieu extérieur et surtout par leur résistance à de très nombreux antibiotiques (39). Ainsi les germes liés à l'hôpital sont plus difficiles à combattre et sont source de complications sévères.

I-3 SOURCES ET MODE DE TRANSMISSION

Les infections hospitalières proviennent soit :

- de la flore du malade lui-même : (auto-infection)

Le germe en cause n'est pas pathogène dans des conditions normales, mais des gestes inadéquats ou simplement une antibiothérapie peuvent permettre sa multiplication, sa dissémination et son implantation dans un territoire où il peut provoquer une infection.

- de la flore d'un autre malade : (infection croisée)

Le germe en cause se transmet alors :

✓ **Par contact direct d'un malade à un autre**

Cette contamination se fait essentiellement par les mains du patient, ou des gouttelettes de salive, comme l'ont montré les travaux de WELLS (1948) mettant en évidence le rôle capital des gouttelettes de flûtte qui sont des gouttelettes émises par l'homme.

Ces gouttelettes de flûtte sont des mucosités nasales ou pharyngées émises, lors de la toux, de l'éternuement ou d'une simple conversation. Elles sont le support des micro-organismes des flores commensales.

Leur taille est de 100 microns, leur durée de suspension dans l'air est inférieure à trois secondes et leur vitesse de chute est supérieure à 0,3 m/seconde.

Par évaporation ces gouttelettes donnent naissance à des noyaux de condensations : Droplet nuclei (44)

✓ **Par l'air**

Contamination par des gouttelettes de salive et des poussières de textiles chargées de la flore du malade (22).

Les germes aériens ne se trouvent jamais à l'état libre dans l'atmosphère, mais se fixent sur les poussières et les grosses particules qui, en atmosphère libre présentent toujours une large quantité de germes saprophytes, solidement adsorbés à leur surface (45).

Les gouttelettes peuvent se dessécher réalisant des « dropets nuclei » susceptible de rester en suspension et transporter les germes infectieux vivants (44).

Ainsi, l'infection qui sévit dans les blocs opératoires et dans les salles de malades peut se transmettre par voie aérienne. Le rôle de l'air dans la contamination des plaies opératoire a été surtout étudié en chirurgie orthopédique propre par LIDWELL dont les travaux ont montré qu'il existe une corrélation entre le taux d'infection post-opératoire et la quantité de bactéries présentes dans l'air au moment de l'intervention (40,42).

✓ **Par le personnel :**

- qui récolte directement les germes sur ses mains ou sa blouse et les transmettent à un autre malade ;
- qui cultive les germes sur ses propres muqueuses des voies aériennes et intestinales, par exemple, les multiplie et, de la les transmet le plus souvent par voie de contact (porteurs de germes).

✓ **Par des objets**

Il s'agit d'objets souillés par :

- Le matériel d'hébergement du malade
- Les mains du personnel hospitalier
- Des visiteurs
- La nourriture et l'eau contaminée

II/ AGENTS PATHOGENES ET FACTEURS DE RISQUES

II-1 AGENTS RESPONSABLES

L'hôpital est un lieu de passage d'où une multiplication importante de germes microbiens dans l'atmosphère hospitalière qui attaquent avec préférence les sujets immunodéprimés.

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

Les principaux agents responsables d'une infection hospitalière sont :

- Cocci GRAM (+)

- Staphylocoques :

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

- Entérocoques :

Ils sont ibuquitaires

- Bacilles GRAM (-)

- *Escherichia coli*
- *Pseudomonas*
- *Proteus*
- *Klebsiella*
- *Serratia*
- Etc....

II-2 FACTEURS DE RISQUE

La fréquence des infections nosocomiales peut s'expliquer par certains facteurs qui peuvent être liés :

➤ Au malade

- son age : Les nouveau-nés en particuliers les prématurés, et les personnes âgées sont particulièrement réceptives.
- sa pathologie : certaines pathologies constituent un terrain favorable comme les immunodéprimés, les polytraumatisés et les grands brûlés.

➤ A certains traitements

- les antibiotiques qui déséquilibrent la flore des patients et sélectionnent les bactéries résistantes.
- les traitements immunosuppresseurs qui entraînent l'installation d'un terrain favorable à la réception d'une infection.

➤ La réalisation d'actes invasifs

Ces actes invasifs étant nécessaires au traitement du patient mais constituent des facteurs de risques d'une infection nosocomiale. Ceci explique le caractère inévitable de certaines infections nosocomiales et la nécessité de prendre en compte ces facteurs de risque lors de l'interprétation des taux d'infection nosocomiale.

Ainsi la surveillance est un des moyens efficaces pour réduire les infections nosocomiales dans les services exposés (32).

Les facteurs liés à l'acte invasif peuvent être :

- Sondage urinaire

A la lumière de la plus part des analyses des facteurs de risque, le sondage urinaire et ses modalités semblent être à l'origine de ces infections ce qui a été confirmé par Givens et Wenzel qui a observé que le sondage post opératoire augmentait le séjour du malade de 2 à 4 jours (30).

- Cathétérisme
- Ventilation artificielle
- Intervention chirurgicale

➤ Facteurs généraux (7)

- Le mauvais usage des produits nettoyant et désinfectant
- La désinfection insuffisante
- La mauvaise organisation des circuits de distribution du matériel propre et d'élimination du matériel sale.

- La longue durée d'hospitalisation : le risque dépend également de la durée du séjour hospitalier avant le sondage, de la mise en place de la sonde en dehors d'un bloc opératoire et de l'existence ou non d'une des connexions du système de drainage (14,56,58).

III/ DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le laboratoire étudie le comportement de la souche bactérienne responsable de l'infection de façon aussi approfondie que possible en milieu hospitalier, il doit également étudier l'environnement microbien du malade.

Le diagnostic biologique microbien permet de mieux cerner l'épidémiologie des infections nosocomiales et de mieux adapter l'antibiothérapie à la suite d'une meilleure connaissance des germes.

Ce diagnostic permet la surveillance des infections nosocomiales ; Ainsi quatre sites sont surveillés : **(48)**

- les urines
- le sang
- les cathéters de perfusion
- les sécrétions broncho-pulmonaires

III-1 PRODUITS PATHOLOGIQUES

III-1-1 Généralités

III-1-1-1 Définition

Ce sont des produits biologiques où se sont multipliés des microorganismes responsables de l'infection. On distingue ainsi :

➤ Les produits pathologiques mono microbiens

Ce sont des produits biologiques originaires d'une cavité naturelle qui est stérile à l'état normal.

Les prélèvements doivent être réalisés à l'aide d'une aiguille ou tout autre matériel de ponction.

On peut citer : le liquide céphalo-rachidien ; le sang ; liquide pleural

➤ Les produits pathologiques poly microbiens

Ce sont des produits biologiques issus de cavités naturelles qui sont normalement septiques ; ce sont des produits riches en germes ou des produits contaminés par des germes lors de leur élimination dans le milieu extérieur.

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

III-1-1-2 Règles générales de l'examen bactériologiques des produits pathologiques

➤ **Prélèvement**

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

Le détail des techniques de prélèvement, varie en fonction du prélèvement pathologique, qui doit être adressé au laboratoire avec le renseignement succinct sur le malade et son état clinique. La qualité du prélèvement conditionne la qualité des résultats.

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

➤ **Transport et conservation**

En règle générale il faut effectuer le prélèvement au laboratoire ou l'acheminer dans les meilleurs délais possibles.

Si les délais d'acheminement sont longs, il faudra utiliser des milieux de transport qui vont assurer la survie des germes sans provoquer de multiplication. Si cet acheminement n'est pas possible, il faudra alors conserver le prélèvement, mais dans des conditions qui sont spécifiques à chaque prélèvement.

Uries : conservé à 4°C ce qui permet d'éviter toute altération du produit pathologique jusqu'à son arrivée au laboratoire.

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

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

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

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

L'examen direct place la recherche bactériologique dans un complexe cytologique. On procède ensuite à la mise en culture qui se fera en fonction des

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

En règle générale, il faut toujours éviter d'identifier des bactéries de souillures ou de donner un antibiogramme inadéquat qui représente une incitation à la mise en œuvre d'une antibiothérapie et qui en déséquilibrant la flore commensale des individus, favorise l'émergence des souches résistantes.

III-1-1-3 Résultats

Le clinicien a toujours besoin de disposer de résultats dans les meilleurs délais, et il ne faut pas attendre l'identification complète des bactéries et la réalisation de leur antibiogramme pour communiquer les résultats partiels qui peuvent être très utiles.

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

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

Dans un second temps, on rend les résultats de la culture ; puis de l'antibiogramme.

III-1-2 Produits pathologiques étudiés

III-1-2-1 Sang

➤ **Physiopathologie**

Le sang est prélevé pour réaliser des hémocultures. L'hémoculture est un examen urgent, consistant à rechercher la présence de bactérie dans le sang.

L'hémoculture est généralement réalisée devant toute fièvre non expliquée et devant tout syndrome clinique évocateur même quand la fièvre est isolée. Elle est également faites dans des cas d'hypothermies qui peuvent signifier des septicémies à GRAM (-) se traduisant alors un état septicémique particulièrement sévère.

Lorsqu'une infection des voies sanguines est constatée sur une base de donnée bactériologique on parle d'une septicémie ou d'une bactériémie.

- Bactériémie : elle est utilisée dans le cas où les microorganismes sont mis en évidence dans le sang de manière intermittente.
- Septicémie : dans ce cas l'infection des voies sanguines est constatée que sur bases de données cliniques.

Il y a des critères qui permettent de le définir :

- Fièvre atteignant ou dépassant 38° C
- Chute de la tension artérielle
- Oligurie sans autre cause apparente que la septicémie.

Les résultats de l'hémoculture contribuent à :

- * confirmer ou infirmer un diagnostic de bactériémie
- * adapter le traitement
- * suivre l'efficacité du traitement

➤ **Examen bactériologique**

- Examen macroscopique :

Il repose sur l'examen quotidien des ballons d'hémoculture dont le prélèvement a été effectué au niveau du pli du coude.

La positivité de l'examen macroscopique se caractérise par l'apparition d'un trouble du liquide avec parfois hémolyse du culot qui s'est déposé au fond du ballon.

La négativité est l'absence de trouble du ballon d'hémoculture au bout de 10 jours de séjour dans l'étuve.

- Examen microscopique :

C'est l'examen qui permet de déterminer la morphologie du germe responsable de l'infection. On réalise dans cet examen :

- L'état frais
- La coloration de GRAM

III-1-2-2 Uries

➤ **Physiopathologie**

L'analyse qui permet de faire le diagnostic biologique de l'infection urinaire est appelée examen cytobactériologique de l'urine (ECBU).

Le terme d'infection urinaire est impropre il s'agit en fait d'infection des voies urinaires et on parle alors de l'infection du tractus urinaire (ITU).

➤ **Condition de l'ECBU**

Après le prélèvement des urines qui conditionne la qualité de l'ECBU et qui se fait selon plusieurs techniques à savoir :

- Prélèvement naturel physiologique quand le sujet est coopératif
- Sondage vésical quand le sujet est non coopératif
- Prélèvement chez l'enfant, prélèvement chez les porteurs de sondes à demeure.
- La ponction sous pelvienne

L'ECBU se poursuivra de la manière suivante :

- **L'examen macroscopique**

Ils nous renseignent sur les caractères organoleptiques de l'urine. L'urine normale est jaune pale, limpide. Cet examen macroscopique n'a qu'une valeur d'orientation.

• L'examen microscopique

Il comprend deux volets :

- Un volet cytologique qui est d'abord quantitatif : la numération se

fera sur les urines totales a l'aide d'une cellule genre KOVA.

Le résultat est exprime en leucocytes ou hématies / mm³. Quantitativement l'examen se fera sur le culot de centrifugation des urines.

Durant cet examen on peut rencontrer : Hématies „Polynucléaires Lymphocytes ,Cellules rénales rondes,Trichomonas vaginalis,Levures, Spermatozoïdes,Cristaux, Cylindres, Cellules endothéliales ...

- Volet bactériologique : il est quantitatif et se pratique sur le culot de centrifugation. La coloration de GRAM déterminera :

- le mode de groupement
- l'activité tinctoriale
- l'abondance
- l'homogénéité morphologique

• Uroculture

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

Plusieurs méthodes de dénombrement des germes sont possibles :

Technique de lame immergée, dilution à l'œse sur gélose sélective.

III-1-2-3 Pus

➤ **Physiopathologie**

La formation du pus est un des signes les plus caractéristiques d'une infection. Sous ce terme de pus, on considère les prélèvements de produits pathologiques hétérogènes provenant d'infection de localisation différente et mettant en cause de nombreux agents infectieux.

- Pus d'infection superficielle
- Pus d'infection profonde
- Pus d'infection des séreuses

➤ **Examen bactériologique**

Comme pour les autres analyses, le dénombrement bactériologique est le même :

- o Examen macroscopique

Il permet de noter : La consistance du produit, La couleur, L'aspect sanglant, L'odeur, La présence de grains.

- o Examen microscopique

Il permet de :

- Déterminer la cytologie
- Rechercher la présence des bactéries en particulier :
 - Leur abondance
 - La diversité

La prédominance d'une espèce bactérienne

- o Ensemencement

On ensemence une gamme de milieux en fonctions des résultats de l'examen microscopique. Quand l'examen direct est négatif, on ensemence des milieux enrichis. Les colonies qui sont apparues dans les milieux d'isolement sont d'abord purifiées avant la réalisation de l'antibiogramme.

III-2 LE MANU PORTAGE ET LE MATERIEL MEDICAL

Le prélèvement sur le personnel hospitalisé ainsi que les cathéters portant la mention « stérile » est effectué lors d'enquête et de programme de contrôle (44).

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

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

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

III-3 PHENOTYPAGE (CARACTERISATION DES SOUCHES)

C'est la caractérisation des souches, elle est faite en cas d'épidémie.

III-3-1 Antibiotypie

Elle permet la détermination de la sensibilité des germes aux antimicrobiens. L'étude des profils de sensibilité se fera par deux principales méthodes

- La méthode de diffusion en milieu gélose : antibiogramme standard
- La détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice) et du CMB (concentration minimale bactéricide).

III-3-1-1 Antibiogramme

Il est à la fois l'étape ultime de l'examen cytobactériologique et l'étape la plus importante pour le clinicien dont il guide le choix thérapeutique.

L'évolution des infections dépend essentiellement de la rapidité avec laquelle une antibiothérapie adaptée est instituée. L'antibiogramme permet de classer la bactérie en trois profils :

- sensible
- intermédiaire
- résistante
-

III-3-1-2 Détermination de la CMI

Dans les infections légères, la détermination de la sensibilité aux antibiotiques par antibiogramme simple est suffisante. Par contre dans les états infectieux sévères il est souvent utile de connaître la C MI et la C MB du germe à l'aide de méthode de dilution en milieu liquide ou en milieu solide.

III-3-2 Sérotypie

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

Les réactions immunologiques sont fréquemment utilisées pour le typage de la plupart des bacilles gram (-) en particulier *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Les méthodes de typage des antigènes capsulaires de *Staphylococcus aureus* ont été récemment améliorées (2).

Le sérotypage peut être d'un grand apport par l'identification d'autre bactérie aussi en épidémiologie qu'en matière de recherches (3).

III-3-3 Biotypie (35,57)

Les procès d'identification des sous-groupes de bactéries basés sur les réactions biochimiques caractéristiques peuvent également être employés.

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

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

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

III-3-4 Lysotypie

C'est l'étude de la sensibilité au bactériophage. Cette étude concerne la plupart des bactéries responsables d'infection nosocomiale.

La technique est spécialement adaptée au typage des souches de *Staphylococcus aureus* (57).

Ce procédé est habituellement utilisé dans les laboratoires de référence.

Le transport des plasmides par le bactériophage peut interférer dans l'interprétation des résultats (18).

III-3-5 Bactériocinotypie (3)

Les bactériocines sont des substances élaborées par certaines bactéries et qui peuvent inhiber la croissance d'autres bactéries. Donc, la production de telles substances par une souche épidémiologique ou la sensibilité de la bactérie en question aux produits secrétés par d'autres bactéries peuvent être utilisées comme méthode de typage pour un certain nombre microorganismes.

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

III-3-6 Plasmide de résistance (16)

Ce sont des DNA extra chromosomiques qui sont capables d'autoréplication. Les plasmides sont habituellement transmis à une autre bactérie par conjugaison ou traduction.

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

Ces plasmides peuvent être typés par électrophorèse après digestion par des enzymes de restriction qui reconnaissent des séquences nucléotidiques spécifiques.

De très nombreux plasmides de résistance ont été identifiés à ce jour.

L'étude des plasmides de résistances est désormais à la portée de nombreux laboratoires hospitaliers.

III-3-7 Ribotypie (51)

Elle consiste à l'analyse électrophorétique des fragments de RNA ribosomique.

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

III-3-8 Toxinotypie

Ces toxines sont des substances élaborées par une bactérie. Ces substances peuvent être de nature protéique ou lipopolysaccharidique.

Ces toxines peuvent varier d'une souche à une autre. La toxinotypie nous renseigne sur le profil électrophorétique de différentes toxines.

III-3-9 Zymotypie (12-13-19)

C'est un critère taxonomique qui utilise le polymorphisme enzymatique d'une souche.

Certaines souches bactériennes peuvent être caractérisées par leur protéine de structure ou par les protéines secrétées.

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

Généralement, trois groupes d'estérases A, B et C correspondent à des souches d'origines géographiques différents sont décrits.

III-3-10 Pulsotypie (32-52)

L'analyse des DNA génomiques des staphylocoques est une méthode de référence par la caractérisation des différentes espèces.

Elle consiste à une analyse électrophorétique des fragments de restriction du DNA chromosomique dans un champ électrophore tique.

III-4 METHODES INDIRECTES DE DIAGNOSTIC : METHODES SERO-

IMMUNOLOGIQUES

Ce sont des méthodes séro-immunologiques qui sont basées sur :

- Le dosage des cytokines de l'inflammation : IL₁, IL₆, TNF alpha, INF gamma
- La mise en évidence d'une réaction antigène –anticorps

III-4-1 Dosage des cytokines de l'inflammation: IL₁, IL₆, TNF

alpha, INF gamma

De nombreuses cytokines sont retrouvées au niveau des foyers inflammatoires. Deux d'entre elles IL₁ et TNFalpha (Tumor Necrosis Factor) constituent les chefs de file des mécanismes de l'inflammation.

Sous leur action, de nombreuses cellules produisent des médiateurs lipidiques, des enzymes protéiques, des radicaux libres et autant de facteurs directement responsables des effets délétères observés.

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

Pour amplifier la réponse immunitaire IL₁ et TNF alpha verront leur production augmentée par des cytokines telles que INF gamma et IL 8ou les Granulocytes Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF).

Deux autres cytokines comme IL₆ et IL₈ jouent un rôle cible au cours des réactions inflammatoires.

III-4-2 Mise en évidence d'une réaction antigène –anticorps (Ag-Ac) invisible

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

Ces réactions sont les suivantes :

➤ Réaction d'immunofluorescence

Elle consiste à faire réagir les sérums étudiés sur les antigènes déposés sur des lames.

Après incubation et lavage, les éventuels anticorps sont révélés par des agglutinines conjuguées à une substance fluorescente.

➤ Réaction de fixation du complément

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

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

- l'antigène
- l'anticorps
- le complément
- le système hémolytique constitué par exemple de globule rouge de

mouton et des Ac antiglobules rouges de mouton

- les hématies

➤ Hémagglutination passive

Elle consiste à mettre en présence diverses dilutions de sérum d'études et d'hématies jouant le rôle de particules inertes à la surface desquelles ont fixées des antigènes. La plupart du temps, le test est pratiqué en plaque de microtitration à fond rond.

➤ Réaction de précipitation

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

- Il faut que l'antigène soit soluble
- Il faut que l'anticorps soit précipitant

Alors le mélange en proportion convenable de la solution antigénique et l'anticorps va entraîner au bout d'un certains temps un précipite.

Cette réaction Ag –Ac s'explique par la théorie du réseau. Parmi ces réactions on peut citer :

- réaction ouchterlong
- immunoélectrophorèse
- électrosynerése

➤ Réaction immunoenzymatique: la technique d'ELISA

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

Les substrats les plus utilisés sont :

Peroxydase

Phosphatase

IV/ CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES

La classification repose sur leur structure chimique et leur mécanisme d'action, lesquels conditionne leur spectre d'activité (**27,29**).

Nous insisterons ici sur la classification basée sur le mécanisme d'action.

IV-1 ANTIBIOTIQUES INHIBITEURS DE LA SYNTHESE DU PEPTIDOGLUCANE

Le peptidoglycane (mureine ou mucopeptide) est un constituant essentiel de la paroi des bactéries. Il lui confère une rigidité ou résistance physique lui permettant de faire face aux différentes agressions. C'est un hétéropolymère dont la composition est la suivante (8,38) .

Chaînes polysaccharidiques faites d'une alternance de N-acetyl-glucosamine et d'acide N-acetyl-muramique

Chaînons tetrapeptidiques (contenant de la L –alanine, D – alanine de l'acide D- glutamique et de la L-lysine de l'acide diaminopimelique) branches sur l'acide N- acteyl muramique.

Parmi ces antibiotiques on peut citer :

➤ **Les bétalactamines**

c'est une famille très prolifique d'antibiotiques dont le premier représentant ; la pénicilline G est à la base de l'antibiothérapie. La structure du noyau de base comporte toujours le cycle bêta-lactame. Les antibiotiques appartenant à cette famille sont repartis en trois groupes :

- Pénams-carbapénems-oxapénams
- Cephems-oxacephems
- Monobactams

Les bêta-lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane notamment la transpeptidation par analogie structurale avec le peptide D-ala-D-ala (38). Les cibles des bêta-lactamines sont des protéines insérées sur la face externe de la membrane cytoplasmique.

Leur nombre varie selon l'espèce bactérienne (4 chez *Staphylococcus aureus*). Les bêta-lactamines ont habituellement un effet bactéricide qui résulte sauf exception d'une lyse bactérienne consécutive à l'activation des enzymes auto lytiques de la bactérie.

➤ **La fosfomycine**

Elle inhibe la pyruvyl transférase par conséquent la combinaison du phosphoénol-pyruvate avec l'UDP-N acétyle Glucosamine (8).

➤ **La D-cyclosérine**

Elle inhibe de façon compétitive lalanine racémase et la D-alanyl synthétases empêchant ainsi la formation de l'UDP N-acétyle muramylpentapeptide.

➤ **La bacitracine**

Elle est uniquement active sur les bactéries gram (+). Elle se combine au lipide transporteur des nucléotides précurseurs de la synthèse du peptidoglycane (8-26).

➤ **La vancomycine**

Elle forme un complexe avec l'extrémité D-ala du N-acétyle murayl pentapeptide empêchant la fixation de ce dernier sur la chaîne de peptidoglycane en formation.

➤ **Teicoplanine**

Elle est très proche de la vancomycine.

IV-2 ANTIBIOTIQUES ACTIFS SUR LES MEMBRANES

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

Des polymixines

- Polymixine B
- Polymixine E (colistine)

Des gramicidines et tyrocidines

IV-3 ANTIBIOTIQUES INHIBITEURS DES SYNTHESES PROTEIQUES

- **Macrolides, lincosamides, streptogramines** : les MLS sont de structure chimique différente mais ils s'apparentent par leur spectre d'activité, leur mécanisme d'action et par les phénomènes de résistance. Ils inhibent la synthèse des protéines au niveau du ribosome. Ils se fixent tous au niveau de la sous unité 50 S (**8-26-38**).
- **Aminosides** : les aminoglycoside perturbent la synthèse protéique au niveau du ribosome, en particulier au niveau de la sous unité 30 S pour la streptomycine.
- **Tétracyclines** : leur action se traduit par une inhibition des synthèses protéiques au niveau des ribosomes. Ils se lient aux protéines de la sous unité 30S mais peuvent aussi se lier en faible proportion aux protéines de la sous unité 50 S (**8**).
- **Chloramphénicol** : il inhibe la synthèse des protéines en se liant de façon réversible aux ribosomes, en particulier au site A de la sous unité 50S.
- **Acide fusidique** : il agit sur la synthèse protéique en inhibant le facteur d'elongation G (translocase), bloquant ainsi la traduction de l'ARN messager au niveau de la sous unité 50S du ribosome (**25**).

IV-4 ANTIBIOTIQUES INHIBITEURS DES ACIDES NUCLEIQUES

➤ **Rifamycines** : deux produits sont utilisés :

- la rifampicine

- les rifamycines se fixent sur l'ARN polymérase ADN dépendante (transcriptase) des bactéries et bloquent la synthèse de l'ARN messager au stade d'initiation (**8-26**).

➤ **Quinolones**: les produits récents de cette famille sont particulièrement intéressants parce qu'ils élargissent le spectre d'activité vers les coccis à Gram (+) notamment à l'image de l'acide nalidixique, ils inhibent la synthèse de l'ADN par blocage de l'activité de la sous unité alpha de l'ADN gyrase.

➤ **Novobiocine** : elle inhibe la réPLICATION de l'ADN en empêchant la fixation de l'ATP sur la sous unité B de l'ADN gyrase.

➤ **Nitro-imidazole** : leur activité passe par une réDUCTION in vivo de leur groupement nitro (-NO₂) .Ils se fixent sur l'ADN au niveau des régions riches en adénines et thyamines, provoquant des coupures de brins et déroulement de l'ADN.

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

IV-5 ANTIBIOTIQUES INHIBITEURS DE LA SYNTHESE DES FOLATES

➤ **Sulfamides** : les sulfamides inhibent de façon compétitive la dihydropteroate synthétase en raison de leur analogie de structure avec celle du Para Amino Benzoïque (PAB).

➤ **Les 2-4 diaminopyrimidines** : ils agissent par inhibition des dihydrofolates réductases bactériennes. Il faut environ 50 milles fois de concentration thérapeutique pour perturber la DHFR de l'hôte.

➤ **Association sulfamide diaminopyrimidines** : à l'image du cotrimoxazole, ces associations sont souvent synergiques et bactéricides si la souche est sensible aux deux antibiotiques.

➤ **Autres antifoliniques** :

- les sulfones :

Les sulfones sont des analogues structuraux de l'acide para aminobenzoïque et des inhibiteurs compétitifs de la dihydropteroate synthétase.

- L'acide par aminosalicylique

C'est un antituberculeux mineur analogue structural du PAB.

IV-6 ANTIBIOTIQUE ANTI TUBERCULEUX

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

V/ MECANISME DE RESISTANCE DES ANTIBIOTIQUES

V-1 DEFINITIONS

V-1-1 Notions de résistance

La résistance désigne l'aptitude d'une bactérie à pousser dans un milieu où la concentration en antibiotique est plus élevée que celle qui empêche habituellement le développement des autres souches de la même espèce.

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

Plusieurs définitions de la résistance des bactéries aux antibiotiques ont été retenues :

- En cas de résistance bactérienne, il y'a une diminution de la sensibilité en comparaison avec celle de la souche de référence (**6**).
- Une souche est dite résistante lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notamment plus élevé que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (**40**).
- Une souche est dite résistante lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter, est notamment plus élevé que la concentration pouvant être atteinte *in vivo* (**40**).
- Une bactérie résiste à un antibiotique lorsqu'une modification de son capital génétique lui permet de croître en présence d'une concentration significativement plus élevée de cet antibiotique (**18**).

V-1-2 Type de résistance

On distingue deux types de résistance :

- Résistance naturelle
- Résistance acquise

V-1-2-1 Résistance naturelle

La résistance naturelle ou résistance intrinsèque correspond à l'insensibilité de la souche à un antibiotique considéré. Cette insensibilité se manifeste d'emblée et elle est permanente chez toute les souches d'une même espèce (49).

Le déterminisme de cette résistance est d'ordre génétique. Elle caractérise l'espèce bactérienne et on peut s'y référer pour définir le spectre d'activité d'un nouvel antibiotique (54).

- *Pseudomonas aeruginosa* résistante à la pénicilline G
- *Proteus mirabilis* résistante à la tétracycline
- *Staphylocoques* résistants à la polymyxine

V-1-2-2 Résistance acquise

On parle de résistance extrinsèque, elle correspond à l'acquisition d'une résistance par une souche normalement sensible. Elle n'apparaît que chez quelques souches d'une espèce donnée normalement sensible, à l'inverse de la résistance naturelle qui est caractéristique de l'espèce (18).

Cette résistance peut intervenir au cours d'un traitement c'est à dire l'utilisation inconsidérée d'antibiotique conduit à une baisse de leur efficacité (5).

Deux mécanismes principaux de résistances peuvent être observés :

- Mécanismes génétiques
- Mécanismes biochimiques

V-1-2-2-1 Mécanismes génétiques

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

➤ Résistance chromosomique

Il peut s'agir d'une résistance chromosomique par mutation ou par remaniement.

- **Mutation** : il peut s'agir d'une mutation ponctuelle dans un gène

De résistance entraînant, par exemple une hypersécrétion d'enzyme inactivant les antibiotiques ou dans un gène de structure qui modifie le spectre d'une enzyme.

- **Remaniement** : il peut s'agir d'un remaniement du génome.

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

La lecture du code va être fausse et le mutant va induire la résistance aux antibiotiques (**5, 9**).

➤ Résistance plasmidique

C'est une résistance extra chromosomique. L'information génétique est portée par des plasmides transférables à d'autres bactéries par conjugaison, par traduction ou par transformation (**50**).

Il existe plusieurs types de plasmides parmi lesquels on peut citer les plasmides R responsable de cette résistance et qui code pour la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds.

Deux types de plasmides ont été décelés : (**21**)

- Plasmides conjugables autotransmissibles
- Plasmides non conjugables qui codent pour les enzymes nécessaires à la conjugaison.

Deux notions sont importantes à préciser

- * Un plasmide peut coder pour la résistance à plusieurs antibiotiques de familles différentes.
- * Les bactéries à Gram (-) possèdent des plasmides qui peuvent se transférer à une autre bactérie par simple contact entre cellule. C'est le phénomène de conjugaison (**62**).

Les bactéries Gram (-) transmettent leur plasmide à de très nombreuses espèces bactériennes et ceci explique le nombre élevé des infections à entérobactéries dans le milieu hospitalier.

Ce phénomène est renforcé par l'existence de transposons qui sont séquence d'insertion, c'est à dire de petit morceau d'ADN interposé entre les gènes de résistance des plasmides (**20**).

V-1-2-2-2 Mécanisme biochimique

Trois mécanismes principaux sont responsables de la résistance aux antibiotiques :

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

➤ **Mécanisme de résistance au bêta-lactamines**

▪ Résistance par production de bêta-lactamases

Chez les bactéries normalement sensibles aux bétalactamines, il s'agit du mécanisme de résistance le plus important (20).

Les bêta-lactamases sont des enzymes capables d'hydrolyser les antibiotiques en ouvrant le cycle bêta-lactamases avec la production de dérivés inactifs.

Le support génétique des bêta-lactamases peut être chromosomique ou plasmidique.

- Chromosomiques : il permet de prédire le profil de résistance de différentes souches d'une même espèce bactérienne, car les déterminants chromosomiques sont alors identiques.
- Plasmidiques : le même enzyme peut se trouver dans de nombreuses espèces différentes à cause de ses propriétés de transfert.

Les bêta-lactamases secrétées par les différentes souches sont des molécules distinctes.

Certaines ont une affinité plus grande pour les pénicillines, d'autres pour les céphalosporines. De même, elles ont des propriétés physico-chimiques différentes

Par exemple : les bêta-lactamases de *Bacillus licheniformis* sont très thermostables et résistent à de grandes variations de pH. Elles ont une très grande affinité pour les pénicillines de groupe Methicilline-oxacilline est très faible ; ce qui fait que souvent elles sont très actives à doses thérapeutique sur les souches productrices de pénicillinases (18).

▪ Résistance par modification de la cible

La paroi bactérienne qui joue un rôle capital de protection et de maintien de la pression osmotique, contient un élément essentiel qui est le peptidoglycane (6)

Ce dernier est un hétéro-polysaccharide venant juste après la membrane cytoplasmique. Ainsi les bêta-lactamines doivent traverser cette membrane pour atteindre leurs cibles moléculaires qui sont des enzymes catalysant les réactions de synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes sont des protéines de liaisons à la pénicilline (PLP). Lorsque ces enzymes sont altérées, les bêta-lactamines ne vont plus les reconnaître, avec comme conséquence la résistance aux antibiotiques.

▪ Résistance par diminution de la perméabilité

Chez les bactéries gram (-), la principale voie d'accès des bêta-lactamines, particulièrement les céphalosporines à la cellule bactérienne, est constituée par les porines.

Ces porines sont de véritables canaux situés sur la membrane externe. La fermeture de cette voie s'accompagne d'une augmentation de la CMI (5).

Les bactéries les plus concernées par cette résistance aux bêta-lactamines sont :

Souches Méthi R des staphylocoques

Bacilles à Gram (-) dont *Escherichia Coli*, *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae* qui constituent la principale source de bêta-lactamases à large spectre inhibant des céphalosporines de troisième génération.

➤ Mécanisme de résistance aux aminosides

L'utilisation abusive des aminosides a conduit à la sélection de multiples souches résistantes.

On distingue comme mécanisme :

L'altération de la cible : la modification va intéresser un acide amine d'une protéine ribosomale au niveau de la sous unité 30 S puis agir sur la biosynthèse des protéines.

- La détoxication enzymatique des antibiotiques : il s'agit d'un mécanisme de type plasmidique. C'est le principal mécanisme de résistance aux aminosides en clinique (5). Les plasmides vont coder des enzymes modifcatrices des aminosides.

- L'interférence avec le transport des antibiotiques : la pénétration des aminosides dans la bactéries nécessite de l'énergie fournie par l'ATP ou l'acétylcoenzyme A (5) Lorsque par exemple le système de transport actif est défectueux, la résistance à l'antibiotique apparaît.

On distingue trois types d'aminosides selon leur structure :

- Les désoxystreptamines, substitués en C4-C5 (Néomycine, Paromomycine)
- Les désoxystreptamines, substitués en C4-C6 (Kanamycine Tobramycine, Dibekacine, Amikacine, Gentamicine, Sisomycine, Netilmycine)
- Un troisième groupe est constitué par l'Apramycine la Fortemycine, la Spectinomycine, la Streptomycine.

➤ Mécanisme de résistance aux macrolides et apparentes

Une des caractéristiques des bacilles Gram (-), est d'être résistant spontanément aux macrolides et aux substances apparentées (5).

Chez les autres espèces bactériennes, la résistance acquise est due à des plasmides qui codent pour la sécrétion d'une méthylase qui elle même va induire l'altération du RNA ribosomal 30S .L'existence de mutant chromosomiques résistants a été prouvé (62).

➤ Mécanisme de résistance aux sulfamides et au trimétroprime

Deux types de mécanisme en jeu :

- Modification de la cible de l'antibiotique

- Modification de la perméabilité de la bactérie à ces molécules.

➤ Mécanisme de résistance aux quinolones

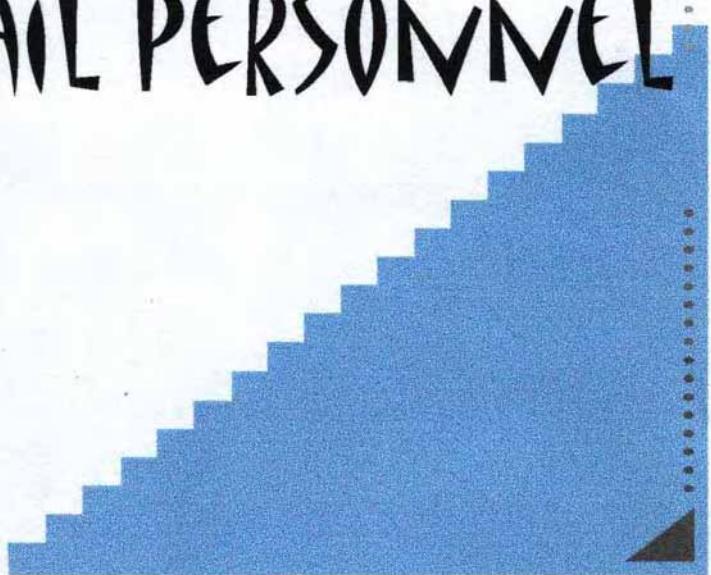
Les quinolones sont des produits de synthèse. La résistance aux quinolones est presque toujours de nature chromosomique (**15**).

Il s'agit d'une mutation dont la traduction sera soit une diminution de la perméabilité à l'antibiotique, soit une modification de la cible par altération d'une sous unité de la gyrase (**24**).



2^{EME} PARTIE

TRAVAIL PERSONNEL





MATERIEL ET METHODES

I/ MATERIEL

I-1 CADRE L'ETUDE

Cette étude est réalisée sur une période de 12 mois (Février 2002 à Février 2003) au niveau du laboratoire de biologie de l'hôpital Principal de Dakar en étroite collaboration avec les services de soins de l'hôpital.

I-2 PATIENTS ELIGIBLES

L'étude est un suivi longitudinal de tous les malades de l'hôpital ayant séjourné pendant une période continue.

Les critères d'inclusion étaient tous patients ayant subi une hémoculture et ayant séjourné à l'hôpital plus de 48 heures.

Les critères d'exclusion : tous les patients dont la période d'hospitalisation n'a pas excédé 48 heures.

I-3 MATERIEL ET REACTIFS D'ETUDE

I-3-1 Matériel de prélèvement

- ✓ Tubes stériles
- ✓ Compresses stériles
- ✓ Antiseptiques doux

Il faut recueillir les renseignements cliniques à l'aide de fiches interrogatoires

I-3-2 Matériel et Réactifs pour analyses

➤ Matériel pour l'examen microscopique

- ✓ Lames et lamelles
- ✓ Pipettes pasteurs
- ✓ Bec bunsen
- ✓ Huile à immersion
- ✓ Anses calibres stériles
- ✓ Microscope optique
- ✓ Colorants pour les GRAM

➤ **Matériel et Réactifs pour l'isolement et l'identification**

Les milieux de culture utilisés

- ✓ Pour l'isolement
 - Gélose EMB (gélose à l'éosine et au bleu de méthylène pour les entérobactéries)
 - Gélose CHAPMAN (pour la recherche de staphylocoques)
 - Gélose GSC (gélose au sang cuit pour la recherche des germes exigeants)
 - Bouillon MH (Muller Hinton)
- ✓ Pour l'identification
 - Milieu Kliger Hajna
 - Milieu Mannitol-Mobilite
 - Milieu Uree-Indole
 - Milieu Citrate de Simmons

- LDC (lysine décarboxylase)

Réactifs pour les tests complémentaires

- ✓ Réactifs de Kovacs
- ✓ Disques d' ONPG
- ✓ Disques d'oxydase

➤ **Matériel et réactifs pour la réalisation de l'antibiogramme**

- ✓ Bouillon MH (Muller Hinton) milieu de base dans lequel tous les germes peuvent pousser
- ✓ Boite de Pétri
- ✓ CEsEs
- ✓ Eau physiologique
- ✓ Disques d'antibiotiques
- ✓ Règle graduée ou pied à coulisse

II/ METHODES

Une enquête rétrospective a été menée dans les services de l'HPD sur l'ensemble des hémocultures adressées au laboratoire de microbiologie.

L'ensemble des services chirurgicaux et médicaux et des soins intensifs ont été inclus dans l'étude.

Notre travail porte sur les souches qui présentent uniquement un ou plusieurs caractères acquis de résistance aux antibiotiques, et non pas sur les résultats individuels de sensibilité aux antibiotiques.

II-1 HEMOCULTURE

L'hémoculture est un examen microbiologique qui a pour but l'isolement d'une bactérie lors d'un état septicémique.

➤ Prélèvement

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

Généralement on prélève 10 ml de sang afin de réaliser une dilution au 1/10 dans le milieu de culture.

➤ Milieux de culture

Ce sont des milieux liquides qui contiennent toutes les substances nutritives nécessaires à la croissance bactérienne. Différents milieux de bases peuvent être utilisés.

Au niveau de l'hôpital Principal de Dakar on utilise le milieu Cœur Cervelle.

A ces milieux de base des suppléments sont ajoutés ; principalement des vitamines et un anticoagulant (polyanéthol sulfonate de sodium = SPS).

➤ Traitement de l'hémoculture.

Le plus souvent l'hémoculture est réalisée au lit du malade et acheminée directement au laboratoire avec les renseignements cliniques utiles au diagnostic biologique.

Les ballons reçus sont mis en incubation à 37°C. La première étape de l'hémoculture repose sur l'examen macroscopique quotidien des ballons. En fonction de la présence d'un trouble ou d'une voile du ballon, différentes étapes vont se succéder :

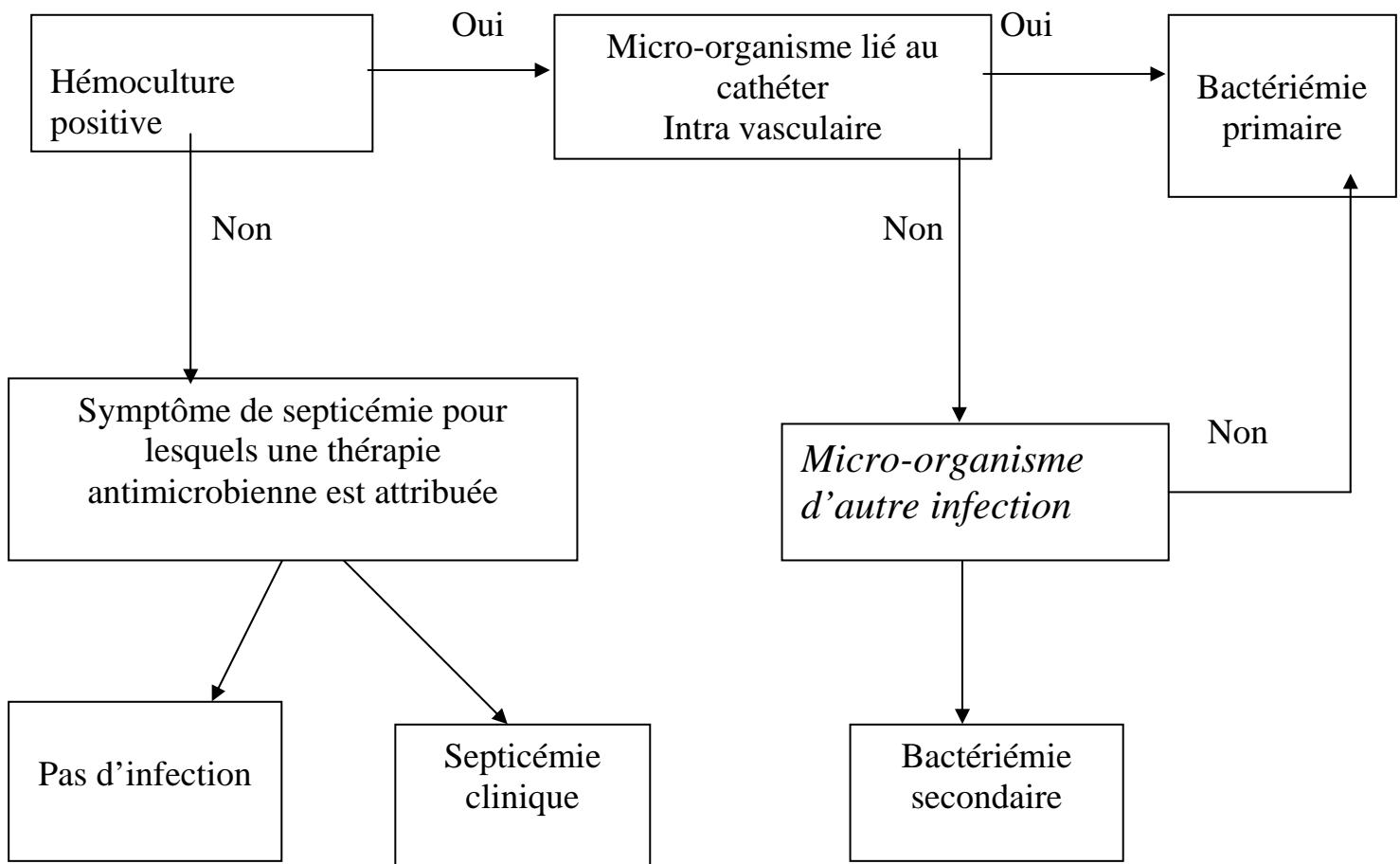


Figure 1 : schéma de traitement d'une hémoculture

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

Ce trouble est généralement évocateur :

- Trouble vert : on peut suspecter les germes suivants

Pneumocoques

Bacilles pyocyaniques

Entérocoques

Streptocoques

- Trouble + grains : granulations homogènes (staphylocoques)
- Présence de gaz : bactéries aérobies

Ces ballons doivent être observés tous les jours ; ceci pendant 10 jours.

On effectue un examen à l'état frais et après coloration de gram ; et en fonction des résultats de l'examen microscopique onensemence des milieux appropriés.

Une culture négative se caractérise par :

une absence de trouble après 10 jours d'incubation l'étuve

un examen microscopique négatif (état frais et coloration de gram)

une absence de germes sur Muller Hinton.

II- 2 IDENTIFICATION DES SOUCHES

Cette identification constitue une phase importante pour la détermination de la souche responsable de l'infection.

Cette identification est basée surtout sur la détermination des caractères de l'espèce en cause :

- ✓ Caractères morphologiques
- ✓ Caractères culturaux
- ✓ Caractères biochimiques
- ✓ Caractères métaboliques
- ✓ Caractères antigéniques

Mais on utilise surtout les caractères biochimiques en utilisant la galerie réduite de Le Minor composée de :

- Le milieu Kliger Hajna
- Le milieu Mannitol Mobilité : ce milieu permet d'observer la mobilité du germe, s'il utilise le mannitol et son caractère respiratoire.
- Le milieu Urée- Indole : pour déterminer la production d'enzyme (uréase, indolase) par le germe.
- Le milieu Citrate de Simmons : permet de dire que le germe utilise le citrate comme seul source de carbone.
- Le milieu LDC (lysine décarboxylase)

Si on n'arrive pas à déterminer le caractère de la souche avec les

portoirs on utilise une galerie Api qui est plus complet que le portoir.

II-3 ANTIBIOGRAMME

La méthode utilisée était la méthode de diffusion en milieu gélosé. La souche utilisée est mise en suspension (Mac Farland 0.5) et ensuite mise en culture pendant 4 à 6 heures à 37°C ; on effectue ensuite une dilution en fonction de la souche.

Avec cette dilution on imbibe le milieu gélosé de Muller Hinton préalablement préparé dans une boîte de Pétri.

Les disques d'antibiotique y étaient déposés et la boîte est incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures. La lecture s'effectue par mesure du diamètre d'inhibition de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse.

Et ce diamètre était comparé avec celui figurant sur les abaques fournis par le fournisseur.

II-4 DEPISTAGE DES BACTERIES MULTI RESISTANTES (BMR)

On appelle bactéries multi résistante une bactérie qui a acquis une résistance à deux ou plusieurs antibiotiques.

Dans notre étude nous avons recherché

- une bêta-lactamase à spectre élargi
- une méthicillino-résistance
- une ticarcillino-résistance.

Ainsi une entérobactérie ou une bactérie non fermentaire, est dite bactérie multi-résistante (BMR) lorsqu'elle présente une résistance acquise aux bêta-lactamines, également qu'à une ou plusieurs autres familles d'antibiotiques, notamment aminosides et /ou quinolones.

Un Staphylocoque sera de la même façon considéré comme BMR lorsqu'en plus d'une résistance à la méticilline, il a acquis une résistance également à un ou plusieurs autres familles d'antibiotiques (aminosides, cyclines, sulfamides...).

➤ Mise en évidence de Bêta-lactamase à spectre élargi ou étendu

La recherche d'une **BLSE** s'effectue systématiquement dès qu'on soupçonne son existence. Une entérobactérie possède une BLSE lorsqu'on observe à l'antibiogramme des sensibilités diminuées pour les céphalosporines hospitalières telles que la Céfotaxime, la Céftazidime, l'Aztréonam.

Cette recherche s'effectue par la mise en évidence d'une synergie entre la Bêta-lactamine testée et l'acide clavulinique. Pour cela il faut placer au centre d'une gélose ensemencée avec la souche testée un disque d'amoxicilline-acide clavulinique et à 30mm de ce disque ;des disques de céfotaximes de céftazidime et d'aztréonam.

Si la souche produit une BLSE il y a une augmentation très nette (supérieure ou égale à 4mm) du rayon d'inhibition autour de la bêta-lactamine et en regard du disque contenant l'acide clavulinique.

Ceci est classiquement décrit comme une image en bouchon de champagne. On peut également dépister les BLSE par comparaison des diamètres d'inhibition de la Cefoxitime et des céphalosporines de troisième génération. Un diamètre de la céfoxitime supérieur au diamètre d'une céphalosporine de troisième génération évoque l'existence d'un BLSE même en l'absence de synergie avec l'acide clavulinique (Absence de bouchon de champagne).

➤ Recherche de la Méthicillino-résistance.

Principe

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

Mode opératoire

- Technique de la diffusion sur gélose

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

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

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

En pratique sur l'antibiogramme il n'est utile de tester qu'un seul disque : l'oxacilline.

La résistance hétérogène s'exprime mal avec les disques de céphalosporines. Il est donc inutile de les tester.

- Technique de la dilution en gélose

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

Cette technique consistant à préparer un inoculum dense (turbidité équivalente à 0.5 Mac Farland) dans l'eau physiologique à partir d'une culture de 24 heures.

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

- Utilisation d'un milieu hyper salé, incubé à 37° C.

➤ Recherche de la Ticarcillino-résistance

Les *Pseudomonas aeruginosa* et *Burkholderia cepacia*, de même que les *Acinetobacter* sont généralement sensibles à la ticarcilline. Cependant certaines souches notamment hospitalières présentent une résistance intrinsèque à cet antibiotique.

Pour faire la recherche d'une résistance à la ticarcilline un disque imprégné de l'antibiotique est placé sur une gélose MH. Dans ce cas une préparation d'inoculum faite à partir de la culture a été coulée en nappe et avant dépôt du disque de ticarcilline.

Après 18 à 24 heures d'incubation l'expression d'une résistance est matérialisée par la présence de colonies plus ou moins nombreuses à l'intérieur du cercle d'inhibition.

II-5 DELIVRANCE DES ANTIBIOTIQUES PAR LA PHARMACIE HOSPITALIERE

Le principe repose sur une sensibilité de la souche bactérienne à l'antibiotique testé avant toute délivrance.

Cette délivrance doit être faite de façon rationnelle pour éviter une éventuelle résistance de la souche bactérienne.

Il faut noter qu'en dehors de la sensibilité à l'antibiotique il faudra tenir compte du coût de cet antibiotique. Ainsi on distingue :

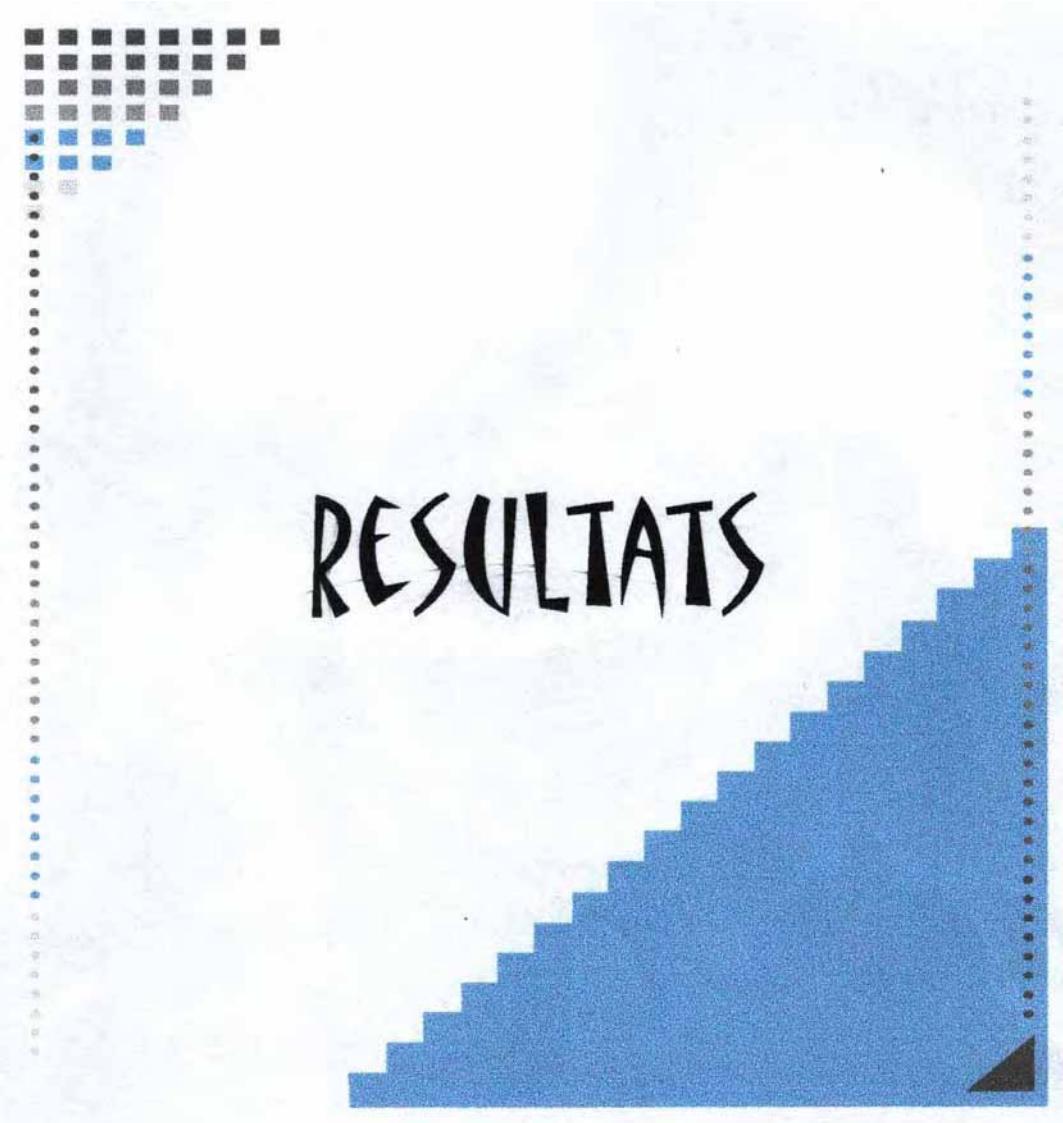
➤ **Antibiotiques courants**

- Amoxicilline
- Pénicilline G
- Ampicilline

➤ **Antibiotiques coûteux**

- Amoxicilline + acide clavulinique
- Céfotaxime
- Ceftazidime
- Imipenem
- Gentamicine Amikacine
- Ciprofloxacine
- Vancomycine

La délivrance des antibiotiques est réalisée à partir de la pharmacie hospitalière qui établit chaque mois le relevé de consommation des différents antibiotiques par services.



RESULTS

RESULTATS

I- POPULATION D' ETUDE

L'étude a concerné les patients hospitalisés plus de 48 heures chez lesquels un ou plusieurs hémocultures ont été prélevées. Il n'y a pas eu de répartition des patients en fonction de l'age et du sexe.

II-RESULTATS D'HEMOCULTURE

Nombre d'hémocultures prélevées : 6110

Nombre total d'hémocultures positives est de : 956 (95% mono microbien)

Nombre d'hémocultures positives non répétitives : 438

Nombre d'hémocultures non répétitive avec présence de bactérie multi résistante est de : 197

Pourcentage de BMR/ hémoculture positive : 45%

Le nombre moyen d'hémoculture prélevé par malade est de 3,5.

II- BACTERIOLOGIE

III-1 REPARTITION DES SOUCHES ISOLEES

Au terme de notre étude, plusieurs souches bactériennes ont été isolées ; c'est ainsi que nous avons au total 438 bactéries dont la répartition est donnée au tableau III.

Tableau III : Répartition des souches bactériennes

Espèces	Nombre	Pourcentage
Cocci à Gram positif	147	33,6%
Entérobactéries	229	52,3%
Bacilles à Gram négatif non fermentaires	62	14,1%
Total	438	100%

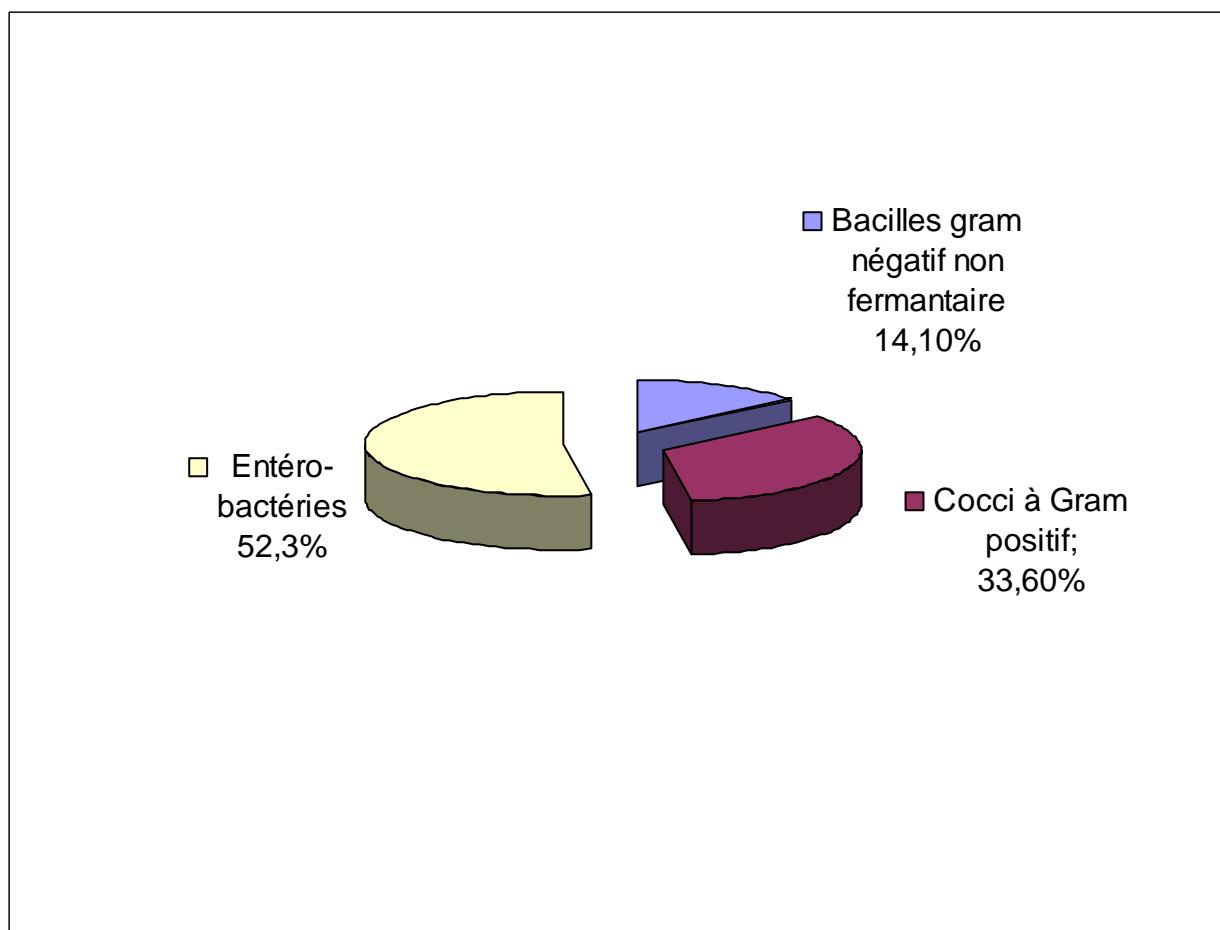


Figure 2 : Répartition des souches bactériennes

Tableau IV : Fréquence des souches isolées

Espèces	ENTEROBACTERIES				BACTERIES NON FERMENTAIRES				COCCI GRAM POSITIF		Total
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Citrobacter diversus</i>	<i>Acinetobacter sp.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus non aureus</i>	
Hémocultures positives	127	55	32	13	2	29	19	14	92	55	438
Pourcentage	29%	12,6%	7,3%	3%	0,46%	6,7%	4,4%	3,24%	21%	12,6%	100%

Les résultats montrent une prédominance des entérobactéries avec un taux de 29% pour *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau V : Fréquences des bactéries multi-résistantes parmi les germes isolés

Espèces	ENTEROBACTERIES				BACTERIES NON FERMENTAIRES				COCCI GRAM POSITIF		Total
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Citrobacter diversus</i>	<i>Acinetobacter sp.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus non aureus</i>	
Hémocultures positives	127	55	32	13	2	29	19	14	92	55	438
Nombre de bactéries multi résistantes	86	19	20	6	1	11	4	12	22	16	197
Fréquences	67,7%	34,5%	62,5%	46,2%	50%	37,9%	21%	85,7%	23,2%	29%	44.9%

De même l'étude montre également une prédominance d'isolement de *klebsiella pneumoniae* BLSE avec 86 souches parmi les 197 bactéries multi-résistantes isolées.

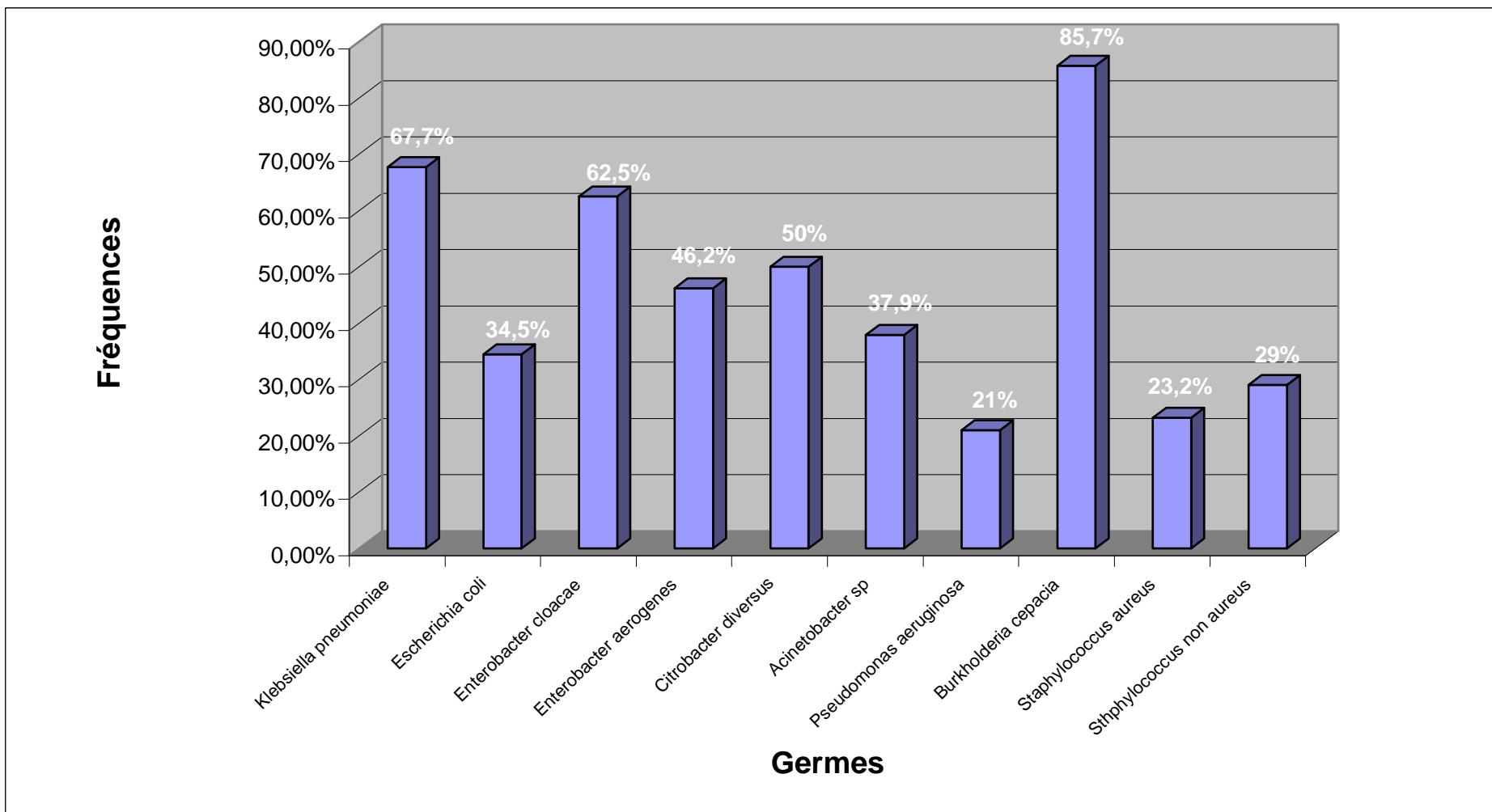


Figure 3 : Fréquence des bactéries multi-résistantes parmi les espèces isolées.

Tableau VI : Fréquences relatives des bactéries multi résistantes isolées d'hémoculture

GERMES	NOMBRES	POURCENTAGES	TOTAL
<u>Cocci à Gram positif</u>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	22	11.2%	19,3%
<i>Staphylococcus non aureus</i>	16	8.1%	
<u>Bacilles à Gram-négatif</u>			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	86	43.7%	
<i>Escherichia coli</i>	19	9.7%	
<i>Enterobacter cloacae</i>	20	10.1%	67%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6	3%	
<i>Citrobacter diversius</i>	1	0.5%	
<u>Bacilles à Gram négatif non fermentaires</u>			
<i>Acinetobacter sp</i>	11	5.6%	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	2%	13,7%
<i>Burkholderia cepacia</i>	12	6.1%	
<u>Total</u>	197	100%	100%

Tableau VII : Répartition des souches multi résistantes en fonction des services

	Pédiatrie	Réanimation	Chirurgie	Médecine
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	7	6	2
<i>Staphylococcus non aureus</i>	8	2	0	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	53	20	5	8
<i>Escherichia coli</i>	7	11	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	11	6	0	3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1	2	2
<i>Citrobacter diversus</i>	0		1	
<i>Acinetobacter sp</i>	5	2	1	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	3	0	0
<i>Burkholderia cepacia</i>	9	2	0	1

Les travaux montrent un important isolement de bactéries multi résistantes à la pédiatrie avec *Klebsiella pneumoniae* (53) des 197 souches isolées suivi *Enterobacter cloacae* (11) et de *Burkholderia cepacia*.

Après la pédiatrie, on a la réanimation où on a isolé 11 *Escherichia coli*.

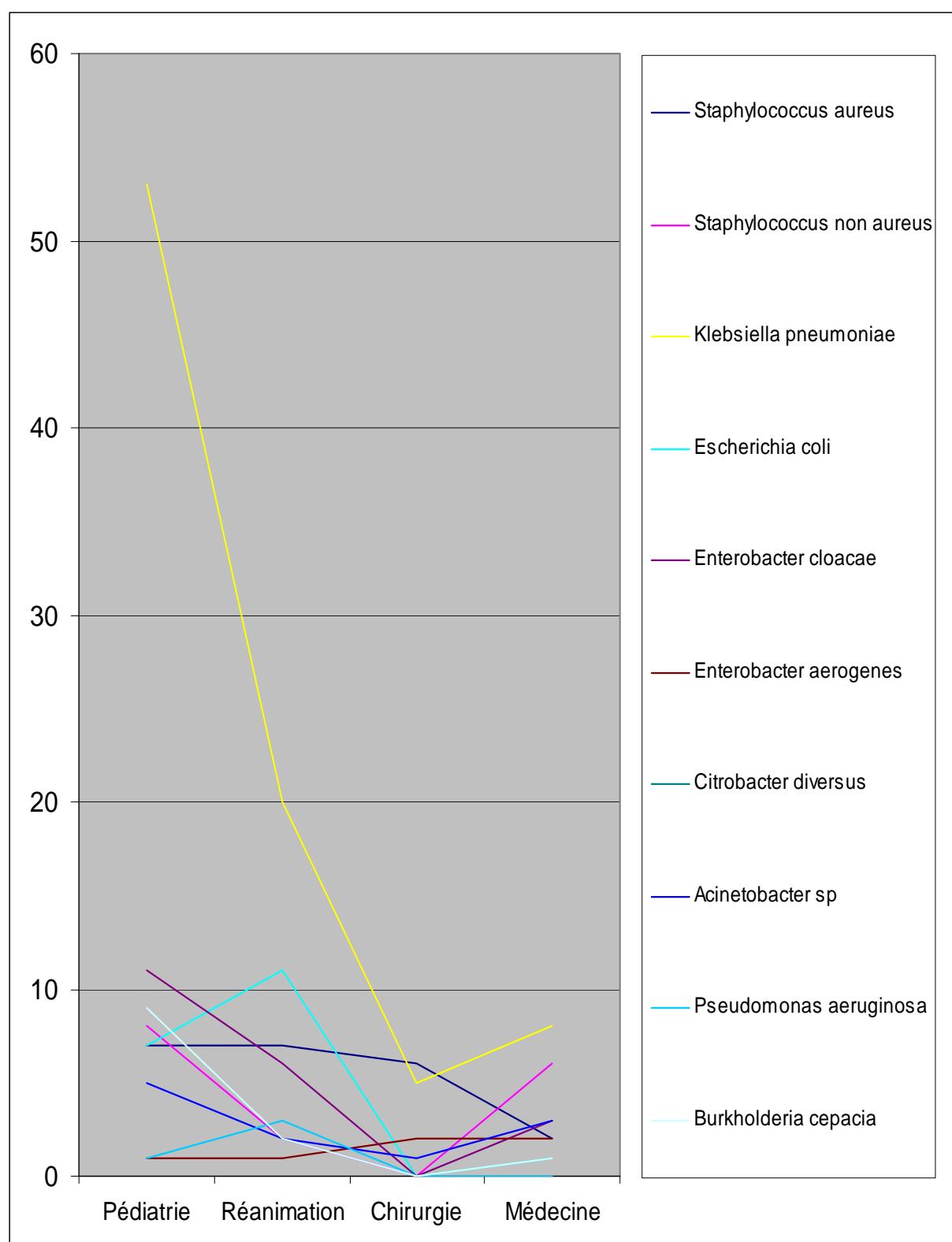


Figure 4 : Répartition des souches multi résistantes en fonction des services

II-2 FREQUENCE DES COCCI A GRAM POSITIF RESISTANTS

Tableau VIII : Répartition des souches de Staphylocoques Méthi R en fonction du service d'hospitalisation

	Staphylococcus aureus		Staphylococcus non aureus		Total d'hémoculture positive	Total bactéries Multi résistantes
	Nombre d'hémoculture positive	Méthi R	Nombre d'hémoculture positive	Méthi R		
Médecine	25	2	16	6	41	8
Chirurgie	12	6	3	0	15	6
Réanimation	25	7	11	2	36	9
Pédiatrie	30	7	25	8	55	15
Total	92	22	55	16	147	38

Les cocci à gram positif viennent en deuxième position avec 147 hémocultures positives non répétitives parmi les 438 identifiées. Parmi ces 147, nous remarquons que 38 sont positives avec présence de bactéries résistantes à la méticilline.

La fréquence d'isolement des cocci gram positif varie selon les services. Elle prédomine en chirurgie pour *Staphylococcus aureus* Méthi R (6/12) et en médecine pour *Staphylococcus non aureus* Méthi R (6/16).

III-3 FREQUENCE DES ENTEROBACTERIES ISOLEES

Tableau IX : Répartition des entérobactéries isolées

	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>Enterobacter aerogenes</i>		<i>Citrobacter diversus</i>		Total hémoculture positive	Total bactérie multi résistantes
	Nombre d'hémoculture positive	BLSE	Nombre d'hémoculture positive	BLSE	Nombre d'hémoculture positive	CHN	Nombre d'hémoculture positive	CHN	Nombre d'hémoculture positive	BLSE		
Médecine	19	8	18	1	7	3	4	2			48	14
Chirurgie	13	5	6	0	3	0	3	2	1	1	26	8
Réanimation	33	20	17	11	9	6	3	1			62	38
Pédiatrie	62	53	14	7	13	11	3	1	1	0	93	72
Total	127	86	55	19	32	20	13	6	2	1	229	132

Les entérobactéries multi résistantes occupent la première place avec 229 hémocultures positives non répétitives parmi les 438 hémocultures positives non répétitives observées.

Toutefois, nous avons dépisté 132 hémocultures positives non répétitives avec présence de bactéries multi-résistantes. L'isolement des germes au sein des services varie avec prédominance de *Klebsiella pneumoniae* (53/62) à la pédiatrie, *Escherichia coli* (11/17) à la réanimation, *Enterobacter aerogenes* (2/3) à la chirurgie.

La seule espèce de *Citrobacter diversus* isolé est multi résistante ; elle est rencontrée à la chirurgie.

III-4 FREQUENCE DES BACILLES A GRAM NEGATIF NON FERMENTAIRES MULTI RESISTANTES

Tableau X : Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multi résistantes

	<i>Acinetobacter sp.</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Burkholderia cepacia</i>		Total hémoculture positive	Total Bactéries multi résistantes
	Nombre hémoculture positive	Bactéries multi résistantes	Nombre hémoculture positive	Bactéries multi résistantes	Nombre hémoculture positive	Bactéries multi résistantes		
Médecine	9	3	3	0	1	1	13	4
Chirurgie	2	1	3	0			5	1
Réanimation	8	2	9	3	2	2	19	7
Pédiatrie	10	5	4	1	11	9	25	15
Total	29	11	19	4	14	12	62	27

Les bacilles à gram négatif non fermentaires multi-résistantes viennent en troisième position après les entérobactéries et les cocci à gram positif avec 62 hémocultures positives non répétitives parmi les 438 isolées.

La fréquence d'isolement est variable, c'est ainsi qu'on trouve pour *Acinetobacter sp* (5/10) à la pédiatrie, *Pseudomonas aeruginosa* (3/9) à la réanimation. Toutes les souches de *Burkholderia cepacia* isolées à la médecine et à la réanimation sont résistantes.

IV- CONSOMMATION DES ANTIBIOTIQUES PAR LES SERVICES

L'étude a montré une grande consommation de l'oxacilline au niveau des quatre services étudiés, principalement en chirurgie et en médecine, un peu moins en réanimation et en pédiatrie.

On note une absence ou rare consommation de l'amoxicilline + acide clavulinique et il en est de même pour la céftazidime ; ceci peut s'expliquer par un coût élevé de ces antibiotiques.

La céfotaxime est assez largement utilisée en médecine et en réanimation.

Tableau XI : Consommation d'antibiotiques en gramme de février 2002 à janvier 2003 par la Pédiatrie.

	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier
Ciprofloxacine		8,7	36	60,5	12,5		21,5	31	21,2	13,5	8	10
Péfloxacine	6,4	1,2	2	2	1,6	3,2	13,6	24,4	45,6	14,4	4,4	12
Amoxicilline+acide clavulinique		0,7	0,8	0,3	3	0,1				0,1	0,1	
Oxacilline	135	405	663	582	415	501	330	215	421	374	171	155
Céfotaxime	128	261	136	113	112	132	70	61	75	64	26	102
Céftazidime					18						6	
Amikacine	13,7	31,8	8	2,5	7	1,9	7,7	11,3	25,8	17,7	9,1	15
Gentamicine	5,7	16,6	12,8	13,5	17,8	17,2	17,6	16,7	23,2	22,3	20,9	23
Vancomycine	60,5									0,5	1	

L'oxacilline est l'antibiotique la plus consommé suivi de la céfotaxime. Nous avons une absence ou une très faible consommation de la céftazidime, de la vancomycine et de l'association amoxicilline + acide clavulinique.

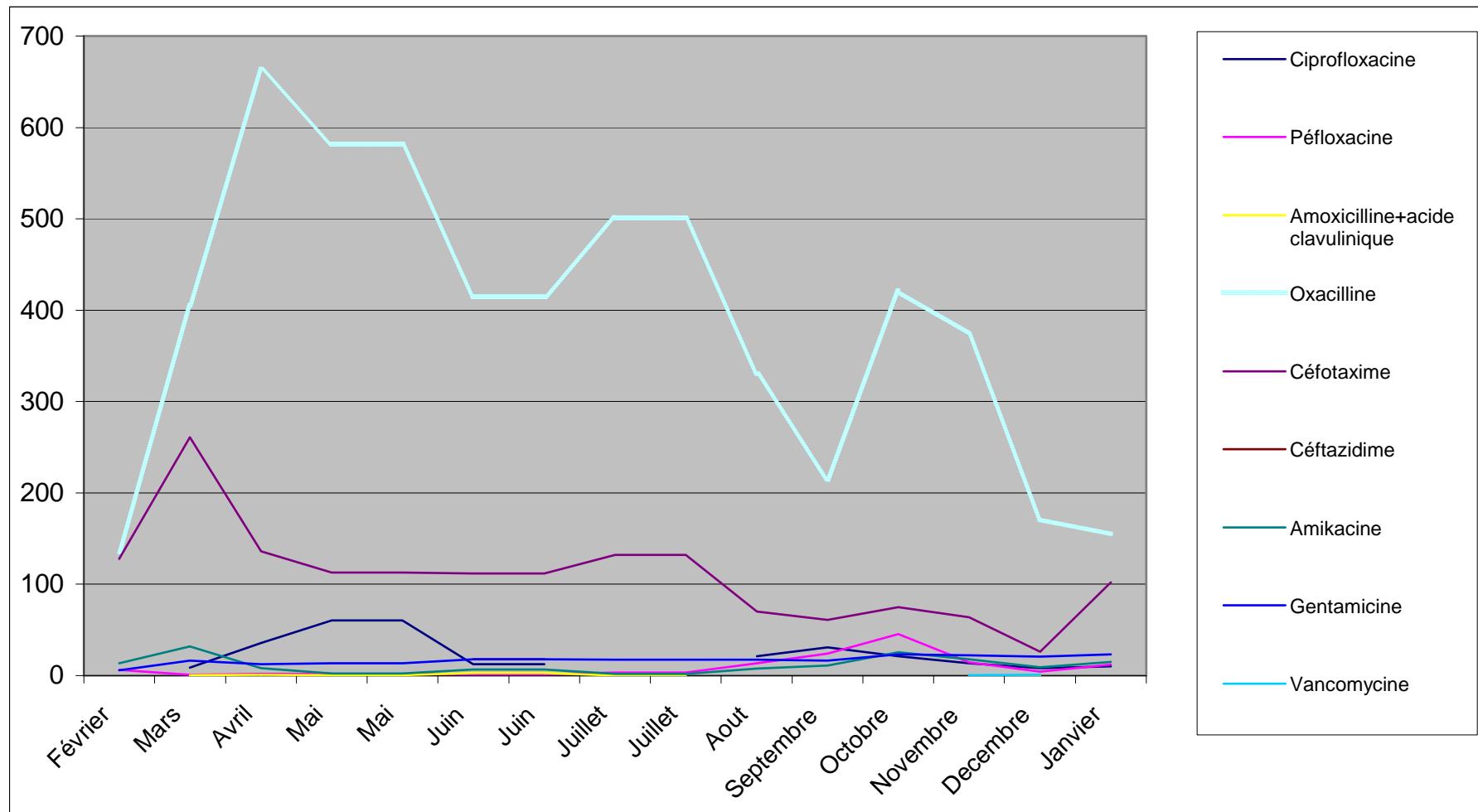


Figure 5 : consommation d'antibiotiques en gramme de février 2002 à janvier 2003 par la Pédiatrie.

Ciprofloxacine			61,2	24	36,5		30	11,5	18	35	10	14
Péfloxacine		11,2			0,8	3,2	12	14	16,8	5,6	16,8	26,4
Amoxicilline+acide clavulinique												
Oxacilline		175	240	265	315	290	390	249	344	330	270	274
Céfotaxime		129	177	88		28	59	24	99	111	120	88
Céftazidime							8					
Amikacine		34	21	9,5	4		21	16		10	23	17
Gentamicine		26,4	20,8	21,6	22,4	11,2	8	20,5	29,6	26,4	31,2	12
Vancomycine			10	10								

Tableau XII : Consommation d'antibiotiques en gramme de février 2002 à janvier 2003 par la Réanimation

L'oxacilline est l'antibiotique la plus consommé suivi de la céfotaxime. Nous avons une absence ou une très faible consommation de la céftazidime, de la vancomycine et de l'association amoxicilline + acide clavulinique.

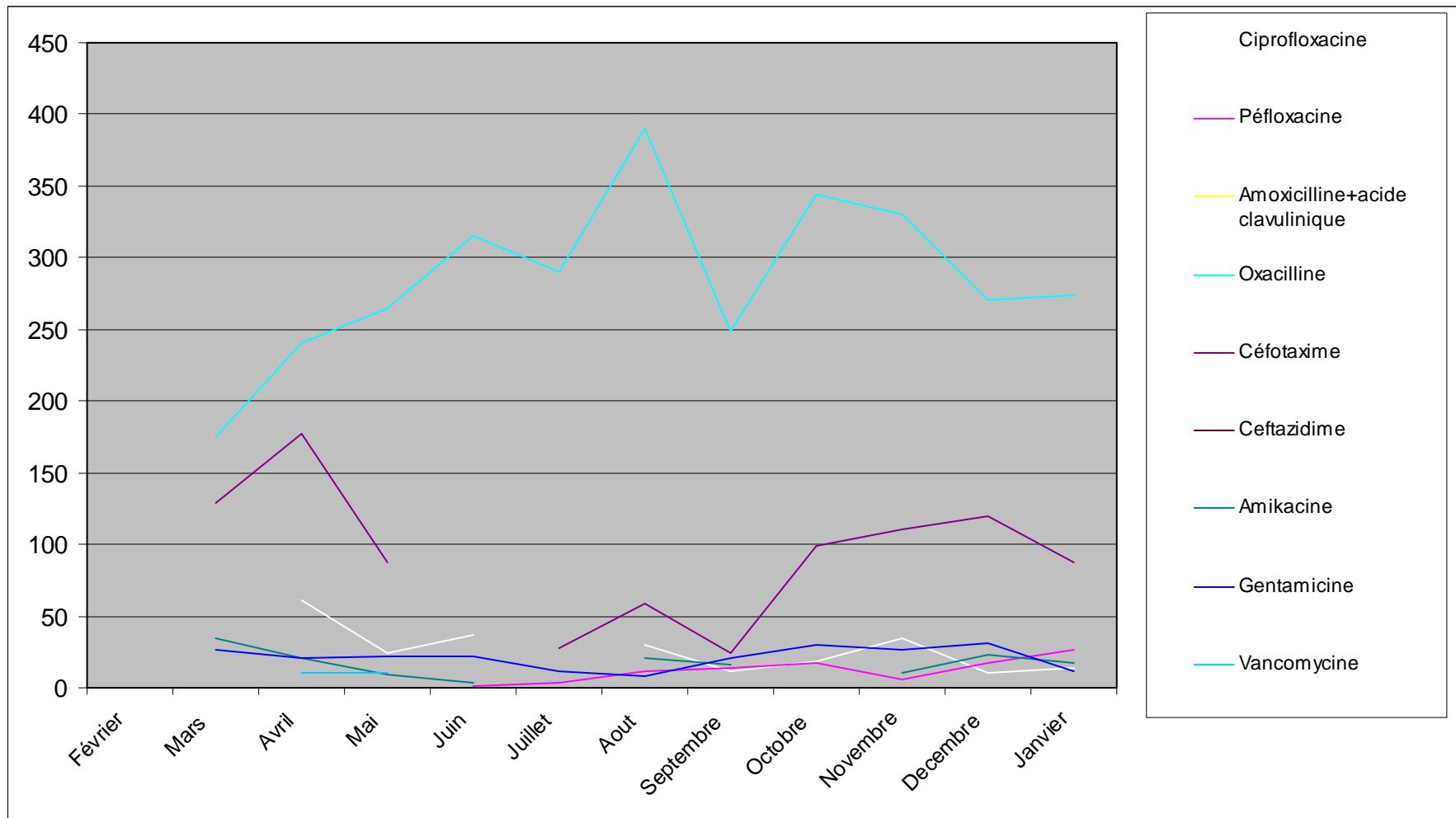


Figure 6: Consommation d'antibiotiques en gramme de février 2002 à janvier 2003 par la Réanimation

	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier
--	---------	------	-------	-----	------	---------	------	-----------	---------	----------	----------	---------

Ciprofloxacine		64,7	13,5	104,5	156,5	117,5	141	174,7	20	266	255	11,2
Péfloxacine	25,6	1,6			13,6	76,6	3,2	6,4	13,6	3,2	36	5,6
Amoxicilline+aci de clavulinique												
Oxacilline	650	1592	1800	2160	2856	2752	1843	2240	2832	2233	2266	1240
Céfotaxime	264	126	257	193		38	5	40	48		20	82
Céftazidime				36	21		1	225				
Amikacine	2,5	7,5	12,5	21,5	17	46,5	35		22	15	27	23,5
Gentamicine	70,6	62,4	62,5	70,8	85,6	32	35,2	39	1384	60,8	76,4	26,4
Vancomycine												

Tableau XIII: Consommation d'antibiotiques en gramme de février 2002 à janvier 2003 par la Chirurgie

Nous notons surtout une absence de consommation de la vancomycine et de l'association amoxicilline + acide clavulinique.

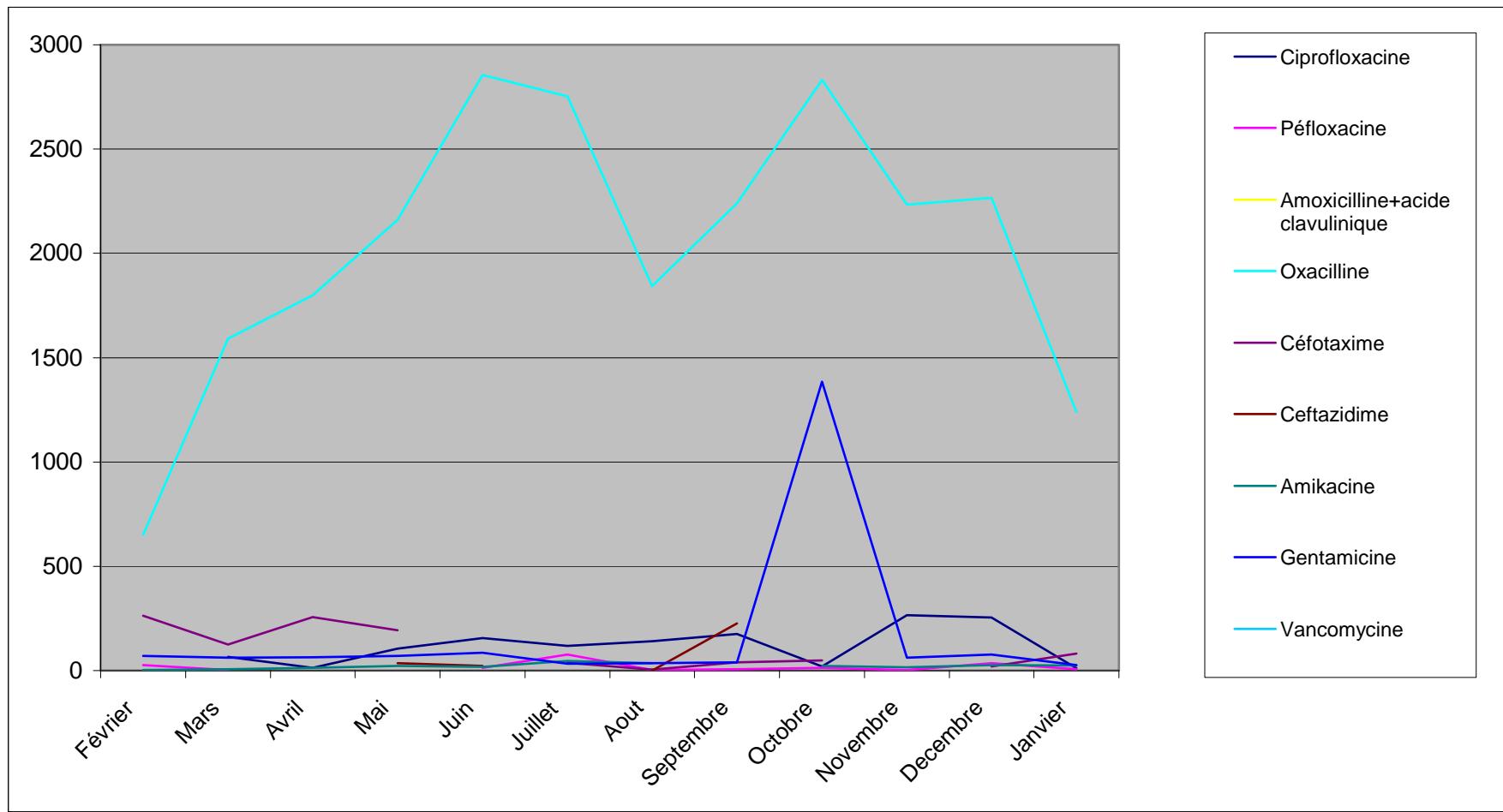


Figure 7 : Consommation d'antibiotiques en gramme de février 2002 à janvier 2003 par la Chirurgie

	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier
--	---------	------	-------	-----	------	---------	------	-----------	---------	----------	----------	---------

Ciprofloxacine		28	165	222,5	311,2	486	282	374,2	364	182,5	214,5	183,5
Péfloxacine	122,8	2,4			50,4	90,4	68	61,2	85,2	62	67,2	53,2
Amoxicilline+aci de clavulinique												
Oxacilline	425	624	995	974	820	1319	820	921	1063	692	801	615
Céfotaxime	860	352	310	50	143	590	274	225	535	349	464	264
Céftazidime	15			14	12	72						
Amikacine	52	12,7	12,5	7	15,5	27,5	34,1	23,5	3	3,5	6	4
Gentamicine	35,7	34,4	17,5	37	56	48,4	13,6	35,7	47,2	39,2	40,2	21
Vancomycine		8		14	14		12					

Tableau XIV : Consommation d'antibiotiques en gramme de février 2002 à janvier 2003 par la Médecine

Nous notons surtout une absence de consommation de l'association amoxicilline+ acide clavulinique.

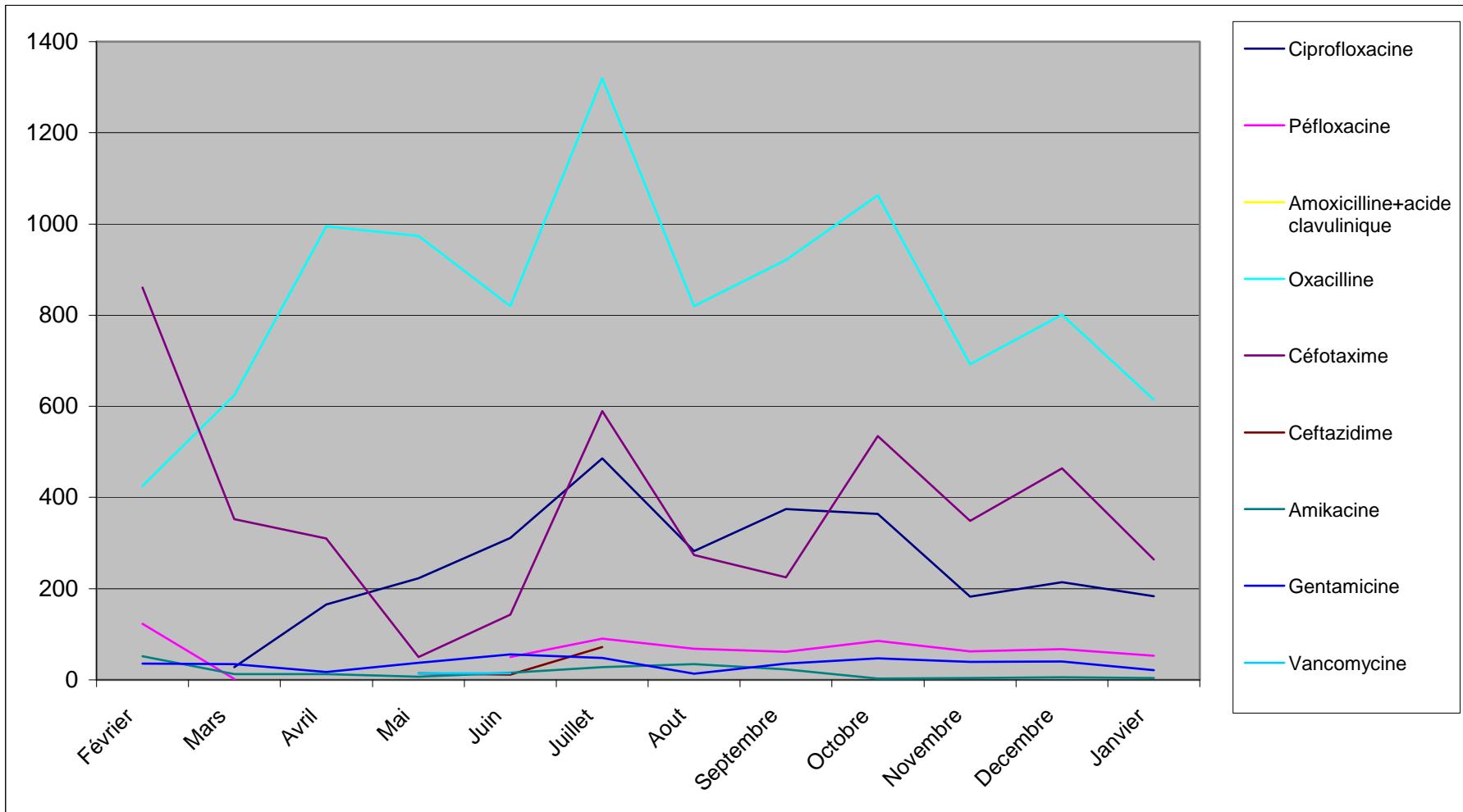


Figure 8 : Consommation d'antibiotiques en gramme de février 2002 à janvier 2003 par la Médecine.

	Pédiatrie	Réanimation	Chirurgie	Médecine
--	-----------	-------------	-----------	----------

Ciprofloxacine	222,9	240,2	1324,6	2813,4
Péfloxacine	130,8	106,8	185,4	662,8
Amoxicilline+acide clavulinique	5,1	1042	204	156
Oxacilline	4367	3142	24464	10069
Céfotaxime	1280	923	1073	4416
Céftazidime	24	8	283	113
Amikacine	151,5	155,5	230	201,3
Gentamicine	207,3	230,1	2005,7	425,9
Vancomycine	62	260	0	48

Tableau XVI : Consommation globale d'antibiotiques en gramme par service

L'étude de la consommation d'antibiotiques montre une utilisation plus importante de l'oxacilline suivi du céfotaxime tous services confondus.

Cependant la chirurgie utilise la quantité la plus importante. L'amoxicilline + acide clavulinique et la vancomycine ne sont pas utilisés ou très faiblement utilisés.

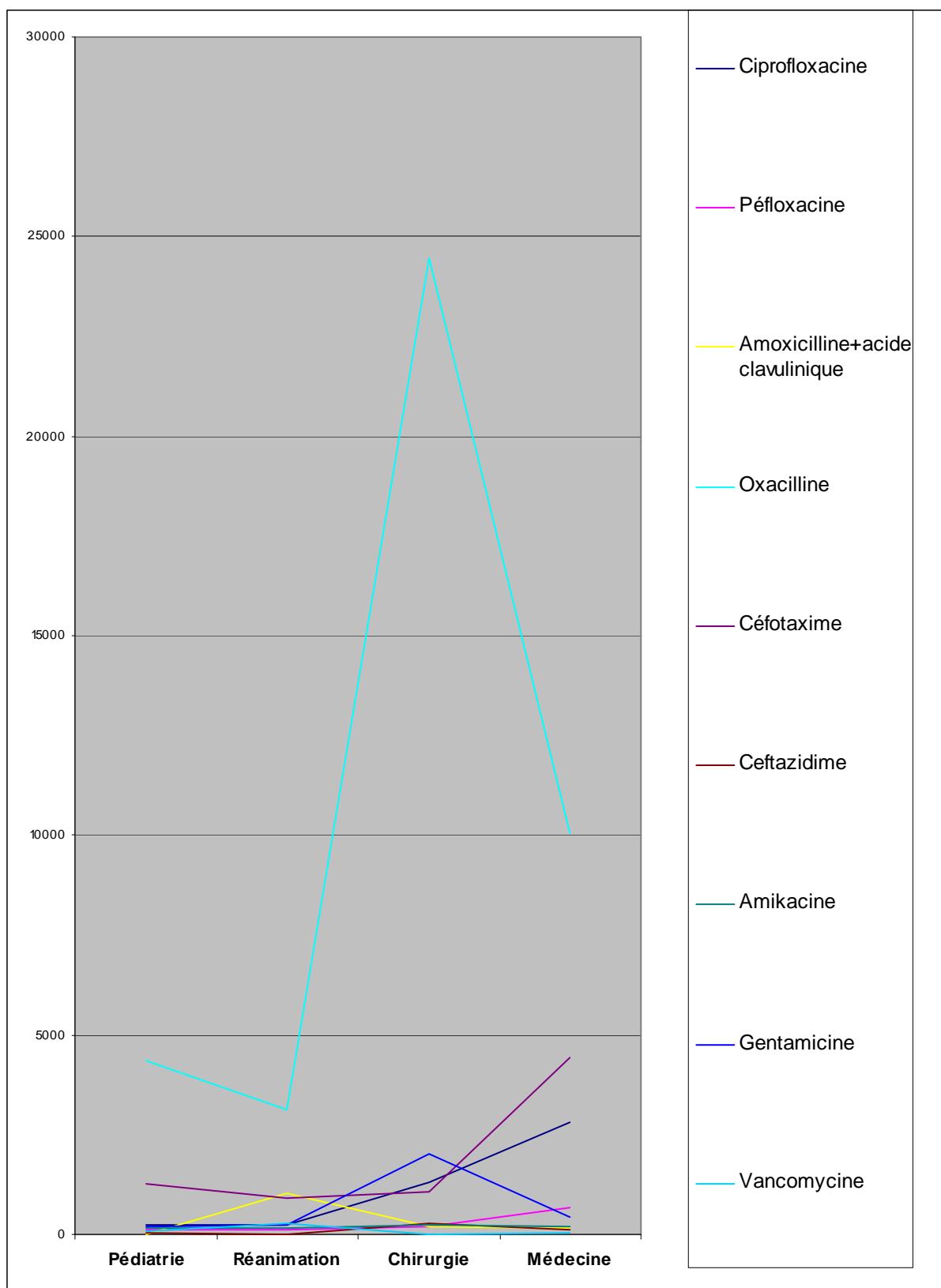
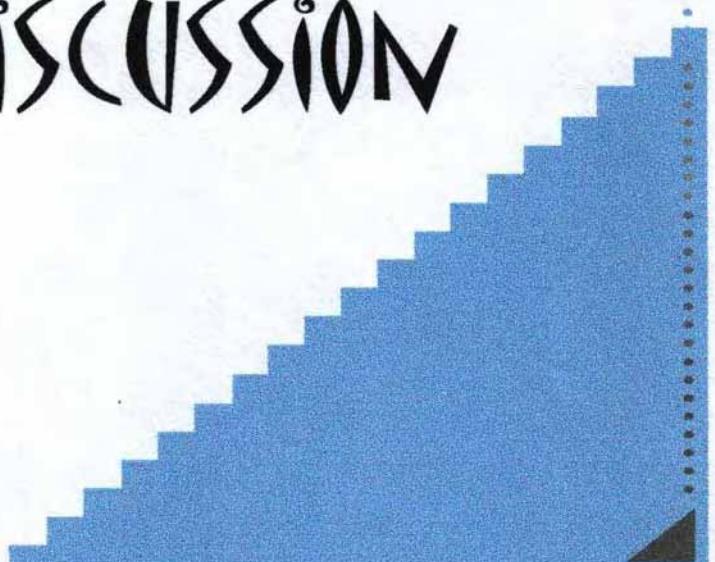


Figure 9 : Consommation globale d'antibiotiques par service



DISCUSSION

Discussion

Dans cette étude, les différents résultats obtenus seront comparés avec ceux d'autres études afin de voir :

- D'abord, la répartition des germes isolés.
- Ensuite, une évaluation plus précise de la fréquence des germes multi résistants dans les bactériémies nosocomiales.
- Enfin de pouvoir juger l'influence de la consommation des antibiotiques sur la détection des bactéries multi résistantes.

I –Répartition des germes isolés

Les bactériémies nosocomiales concernent tous les services de l'hôpital, nous pouvons estimer ce taux à partir de l'enquête « un jour donné » que le CLIN de l'hôpital Principal réalise chaque année. Ce taux est de 1,2% en 2003 (dont bactériémies sur cathéter 0.6%).

Ce taux peu élevé en apparence, est pourtant un indicateur de la qualité des soins, notamment celles relatives à la mise en place et à la surveillance des dispositifs invasifs. Nous n'avons pas cependant évalué le risque bactériémiques en fonction du nombre de cathéter, cette donnée n'étant pas disponible et du fait que la mise en culture du cathéter lors de son retrait n'est pas systématique.

Notre travail a donc porté sur la répartition des germes isolés au cours d'hémocultures réalisées sur une période d'un an. Tous prélèvements confondus, le nombre d'hémocultures adressées au laboratoire est de 6110 flacons, parmi lesquels 956 (soit 15,64%) sont positifs.

Le nombre moyen de flacons d'hémocultures prélevés par malade est de 3,5. Après élimination des doublants, le nombre de souches bactériennes éligibles est de 438.

Dans notre étude les bactéries multi-résistantes les plus fréquemment isolées (*Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) sont les mêmes que celles habituellement décrites dans la littérature (32).

Dans notre étude, nous constatons une plus grande fréquence de bacilles gram négatif (66,4%) au dépend des cocci gram positif (33,6%) alors que les études menées en France, notamment font état de l'inverse (cocci gram positif 54% ; bacille gram négatif 41%) (55).

- Coccoi gram positif

Deux espèces ont été isolées, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus non aureus* avec des fréquences d'isolement respectives 21% et 12,6% qui sont des résultats comparables à des travaux au niveau des hôpitaux de France (23% *Staphylococcus aureus* et 13% *Staphylococcus non aureus*) (11).

- Bacilles gram négatif :

Nos travaux montrent une plus fréquence de *Klebsiella pneumoniae* (29%), *Escherichia coli* (12,6%), *Enterobacter cloacae* (7,3%), *Pseudomonas aeruginosa* (4,4%) ; contrairement à des études réalisées en Europe qui donnent pour *Klebsiella pneumoniae* (3%) (11).

Par contre les travaux réalisés en France sont comparables en ce qui concerne *Escherichia coli* (6,7%), *Enterobacter sp* (8,6%) (1).

II- Fréquence des bactéries multi-résistantes

La fréquence d'isolement des bactéries multi-résistantes est différente.

Habituellement, les souches de cocci à gram positif sont celles les plus fréquemment isolées, avec une fréquence atteignant 50% des isolats. De même, les bactéries à gram négatif (Entérobactéries Pseudomonacae) sont elles retrouvées dans 45% des cas. Enfin, levures et germes anaérobies sont présents dans 5% des cas (12).

Dans notre étude, les taux de fréquence des souches multi résistantes sont respectivement de 19,3% pour les cocci à gram positif et 80,7% pour les bacilles à gram négatif (Entérobactéries 67% et Bacilles non fermentaires 13,7%). Nous n'avons pas isolé de levures, ni de germes anaérobies et, parmi les cocci à gram positif, seul un *Streptococcus pneumoniae* était isolé (sans diminution de la sensibilité à la pénicilline).

Pour les cocci à gram positif nous avons 11,2% pour *Staphylococcus aureus* Méthi R contrairement à des études françaises qui donnent 21% (32) et 8,1% pour *Staphylococcus non aureus* Méthi R, résultats inférieurs aux taux habituellement rapporté dans les études européennes 19,1% (1).

En ce qui concerne les bacilles à gram négatif nos résultats *variables* par rapport à ceux rapportés par d'autres études.

Ainsi nous avons pour *klebsiella pneumoniae* 43,7%, *Escherichia coli* 9,7%, *Acinetobacter sp* 5,6% ; par contre les travaux européennes ont donné une fréquence de 13% pour *klebsiella pneumoniae* (55), *Escherichia coli* 18% (32).

III- Influence de la consommation d'antibiotique

La consommation d'antibiotique que nous avons observé varie d'un service à un autre et suivant l'antibiotique.

Durant, la période d'étude nous constatons une utilisation importante de l'oxacilline suivi de la céfotaxime tous services confondus.

Une tentative d'explication peut être avancée par la forte fréquence dans notre étude, des souches cocci gram positif méticillino-sensible (109/147 soit 74,1%) et, de la part importante au niveau de l'hôpital Principal, de l'utilisation d'oxacilline dans tous services toutes infections confondues.

Toutefois, la fréquence des cocci gram positif résistante à l'oxacilline reste inégale selon les services, prédominant essentiellement dans les services chirurgicaux, la réanimation et la pédiatrie.

On constate alors que l'utilisation de la vancomycine qui est indiquée dans cette situation n'est jamais utilisé en chirurgie à la différence de ce qui est fait en réanimation et en pédiatrie.

Cela tient sans doute au fait que le maniement de la vancomycine est délicat (mise en place d'une voie veineuse centrale) et, que ce geste n'est pas formulé dans les services chirurgicaux, alors qu'il l'est d'avantage en réanimation.

La répartition des entérobactéries (52% des isolats) essentiellement multi résistantes (56,7%) peut être expliquée par la pression de sélection des antibiotiques et la diffusion plasmidique des résistances favorisées par le manu portage.

On note que les services les plus consommateurs d'antibiotiques utilisés dans le traitement des infections à entérobactéries (amoxicilline + acide clavulinique, céphalosporines de troisième génération, aminosides, et fluoroquinolones) sont les services de médecine, chirurgie et de la réanimation.

Mais quand on observe la répartition des entérobactéries, on s'aperçoit qu'elle prédomine en pédiatrie (93/229 soit 40,7%) , où elles sont plus particulièrement résistantes (72/93 soit 77,5% de bactéries multi résistantes parmi les entérobactéries isolées en pédiatrie).

Deux explications peuvent être apportées :

-Les traitements antibiotiques sont inadaptés en qualité et en quantité (indication, posologie).

-Un manu portage très important et, il convient dans ce cas de renforcer les mesures d'hygiène.

L'attention du CLIN de l'hôpital Principal a d'ailleurs déjà été attirée sur ces chiffres et des travaux d'environnement et d'infrastructure ont été réalisés au cours de notre année étude.

Cette résistance des bacilles à gram négatif aux céphalosporines de troisième génération est préoccupante car se sont des antibiotiques majeurs dans le traitement des infections graves.

Enfin, l'absence de résistance des cocci à gram positif aux glycopeptides (vancomycine) au moins à haut risque (type van A) et le faible taux de *Staphylococcus aureus* méthi R (23,3% des souches *Staphylococcus aureus* sont résistants à la méthicilline) est rassurant.

CONCLUSION

Au cours de son séjour à l'hôpital ; tout patient peut contracter une infection nosocomiale bactérienne.

L'importance de la bactériémie nosocomiale a été démontrée par plusieurs études réalisées, en Europe surtout en France.

Notre travail s'est intéressé aux bactériémies nosocomiales, chez les patients hospitalisés dans les services de Médecine, Chirurgie, Pédiatrie, et de la Réanimation de l'hôpital Principal de Dakar pour lesquels une ou plusieurs hémoculture avaient été réalisées.

Nous avons aussi essayé, dans un premier temps d'évaluer la distribution des différents germes rencontrés lors des bactériémies survenant dans les services.

Dans un second temps nous avons étudié la fréquence des bactéries multi-résistantes parmi les souches isolées d'hémoculture.

Au terme de notre étude, nous avons trouvé 438 hémocultures positives dont 197 des souches isolées sont des souches multi-résistantes.

Les bacilles à Gram négatif représentent le groupe le plus important parmi les bactéries isolées avec un taux de 66,4%.

Parmi ces bacilles à Gram négatif BMR on a des fréquences par ordre décroissant : *Klebsiella pneumoniae* (29%), *Escherichia coli* (12,6%), *Enterobacter cloacae* (7,3%), *Enterobacter aerogenes* (3%), *Pseudomonas aeruginosa* (4,4%), *Burkholderia cepacia* (3,2%), *Acinetobacter sp.* (6,7%),

A part ces bacilles à Gram négatif nous avons également isolé des Cacci à Gram positif représentés par *Staphylococcus aureus* (21%) et *Staphylococcus non aureus* (12,6%).

Outre la distribution bactérienne, notre étude s'est aussi intéressée au taux de fréquence des germes résistants parmi les souches isolées.

C'est ainsi que nous nous sommes rendus compte que d'une manière générale la fréquence des germes possédant des mécanismes de résistance acquise, responsables des bactériémies

nosocomiales est élevée avec : *Klebsiella pneumoniae* (43,7%), *Escherichia coli* (9,7%), *Enterobacter cloacae* (10,1%), *Enterobacter aerogenes* (3%), et *Citrobacter diversus* (0,5%).

On a aussi des C cocci à Gram positif avec des fréquences de 11,2% pour *Staphylococcus aureus* méti R et de 8,1% pour *Staphylococcus non aureus*.

Enfin on a les bacilles à Gram négatif non fermentaire avec *Acinetobacter sp* (5,6%), *Pseudomonas aeruginosa* (2%), *Burkholderia cepacia* (6,1%).

En dehors de la distribution bactérienne, nous avons fait aussi l'étude de la consommation des antibiotiques. Malgré une utilisation importante des antibiotiques nous avons remarqué qu'il n'y a pas eu une diminution de nombre bactéries multi-résistantes.

D'une façon générale, la résistance aux antibiotiques associés aux bactériémies nosocomiales est minimale étant donné la corrélation bien établie entre le caractère adapté du traitement de première intention des bactériémies et le devenir du malade.

Il apparaît à la lumière de tout ceci, que pour mieux contrôler l'infection bactérienne nosocomiale, il faut abandonner la pratique coûteuse et surtout de plus en plus inefficace d'une antibiothérapie aveugle et systématique chez les patients présentant une porte d'entrée des germes au profit d'une meilleure application des règles élémentaires d'hygiène hospitalière notamment le lavage des mains avant et après chaque procédure.

Cependant le problème urgent à résoudre est lié, au risque de contamination microbienne auquel sont exposés les patients au cours des différentes procédures de soins. Ceci est essentiellement lié aux attitudes de pratique du personnel qui n'en favorisent pas la diminution.

Par ailleurs, un meilleur contrôle des phénomènes de résistances doit nécessairement impliquer la collaboration entre microbiologistes et cliniciens.

Le laboratoire doit établir le relevé des différents germes rencontrés ainsi leur profil de sensibilité et résistance, ce qui permettra au clinicien de mieux affiner sa stratégie en matière d'antibiothérapie et ainsi de diminuer la pression sélective des antibiotiques.

Après une mise en place laborieuse dans les pays occidentaux de la lutte contre les infections nosocomiales (prévalence, incidence, procédure de soins...), on constate une réelle

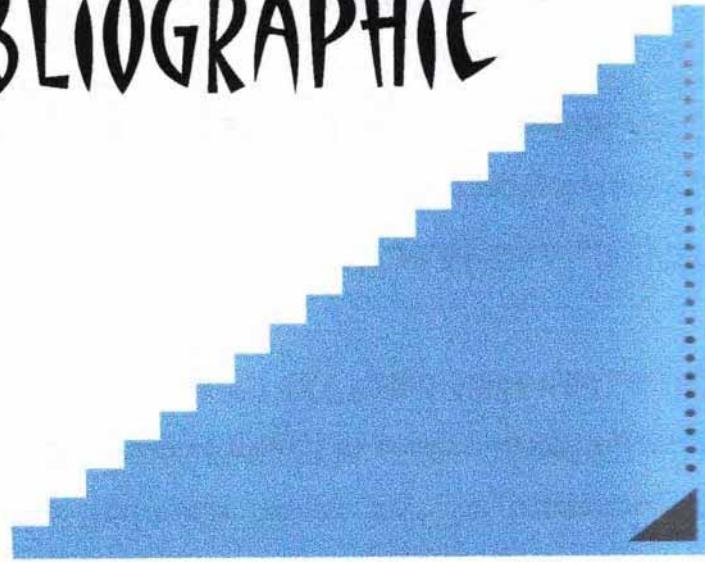
implication des acteurs du système de soins dans notre pays. Cela passe par la sensibilisation des cliniciens qui ont en charge les patients, par le laboratoire de microbiologie qui dépistent l'apparition des résistances bactériennes et en suit l'évolution dans le temps et l'espace, et, surtout par les responsables administratifs et financiers des établissements de soins qui doivent mettre à la disposition des services hospitaliers les moyens humains et matériels qui permettent de contrôler ce phénomène nouveau et coûteux pour le malade comme pour la collectivité.

Notre travail a voulu contribuer en ce sens, la meilleure manière de lutter contre les bactériémies nosocomiales est de respecter les règles élémentaires d'hygiène et de bonne pratique de soins.

Ainsi : « L'hygiène ne devrait plus être un supplément à des soins, mais en être constitutive ».



BIBLIOGRAPHIE



1- ACTUALITES SUR LES INFECTIONS SEVERES EN REANIMATION

XV Congres annuel in European Society of Intensive care Medecine

La lettre de l'infectiologie de la microbiologie à la clinique 2003 (Janvier Février)

2- ARBEIT R.D., KARAKAWA W.W., VANN W.F., and ROBINS J.B.

Predominance of two newly described capsular polysaccharide type among, clinical isolates of *Staphylococcus aureus*.

Diagn. Microbial. Infect. Dis 1984, 2: 85-86

3- ABER R.C., AND MACKEL D.C

Epidemiological typing of nosocomial microorganisms.

In the manuals of microbiology Washington 2ème Ed, 1981, p-118

4- ABER RC. AND MACKER DC, M GOWAN, JE JR.

Role of the microbiology laboratory in prevention and control of nosocomial infection

In Manual of microbial, fourth edition Washington, 1985 pp110-112

5- ACAR J.F., BOUANCHAUD D.H., BUU-HUIA.

Résistance bactérienne aux antibiotiques : *In Le Minor Veron*

Bactériologie médicale

Flammarion, Médecine, Science, Paris, 1989

6- AL OBEID S.

Méthode d'évaluation de l'activité in vitro de la teicoplamine

Information médicale laboratoire Merell Dow Paris, édition 1991

7- AMINATA SECK

Données sur la résistance des souches à l'origine d'infection nosocomiale au CHU de Dantec Dakar

Thèse pharm. Dakar 2001 n 83

8- AZELE FERON

Bactériologie médicale édition C et R 1989

**9- BERGOOGNE E.B.B., CARBON C., COLLATLE F., JOLY V.,
SINGLAS E.**

Résistance bactérienne

Communication partenaire santé, N° spécial 1991

**10- BEZZAOUCHA A., MAKHLOUF F., DEKKAR N et
LAMDJADANI M.**

Prévalence des infections nosocomiales au CHU de Bab El Oued, Alger

Med. Mal Inf., 1994, 2: 96-101

**11-BRANGER B., BUSSY-MALGRANGE V., CARBONNE A., GAYET S.,
JARLIER V., LEPOUTRE A., MALLARET M .R., MARTY N.,
PARNEIX P., SAVEY A., VAN DER MEE-MARQUET N.**

Bactériémies nosocomiales en France

Résultats des données de surveillance des centres de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales

BEH : 2001-50

12- BRANGER B., GOULLET P.

Correlation between esterase electrophoretic types and capsular polysaccharide type 5 and 8 among methicillin resistant strains of *S. aureus*

J.Clin Microbial., 1990; 28(1):150-151

13- BRANGER B., GOULLET P.

Esterase electrophoretic polymorphism of methicillin sensitive et methicillin resistant strains of *s. aureus*

Med. Microbial., 1987; 23:275-281

14- BURKE J.P., RILEY D.K.

Nosocomial urinary tract infection

In Hospital Epidemiology and infection control

C Glenn Mayhall, William and Wilkins, Baltimore, 1996 p.139-153

15- CAMBEAU E., LE COMPTET

Les critères de choix d'une fluoroquinolone

Med. Mal Infect., 1988 ; 18 :317-322

16-CARBONNELLE B., DENIS F., MARMONIER A., PINON G.,

VASGUES R

Sérodiagnostic des infections bactériennes

In Bactériologie Médicale Edition Flammarion ; Paris 1998 pp 309-319

17- CDC DEFINITIONS FOR NOSOCOMIAL INFECTION 1998

GARNER J.S., JARVIS W.R., EMORI J.HORAN T.C. and HUGHES J.M., AMER J.

Infection Control., 1998 ; 16:28-40

18- CHABBERT Y A

Sensibilité bactérienne aux antibiotiques

In Le Minor L; Veron M

Bactériologie médicale

Flammarion, Médecine, Science, Paris 2^{ème} édition; 1989: 204-212

19- CHEUNG A.L., KOOMEY J.M., BUTLEK C.A., PROJAN S.J.,

FISCHETTI V.A

Regulation of exoprotein expression in *S. aureus* by a locus (star) distinct for agar.

Proc .Nath. Acad. Sci. USA, 1992; 89(14):6462-6466

20- COOKSEY R.C.

Mechanisms of resistance antimicrobial agents

In Manual of Clinical Microbiology Filth edition 1991, 1099-1103

21- COURVALIN P.

Plasmide de résistance aux antibiotiques

In Bactériologie Médicale

Med. Sc. Flam, Paris, 1982; 60-62

22- CHRISTOL D., BOUSSOUGANT Y et TREGUER F.

Les germes de l'air. Procédés d'étude et de numération. Devenir spontané

Press. Med. 1971 : 79,271-274

23-CONSEIL SUPERIEUR D'HYGIENE PUBLIQUE DE FRANCE :

cent recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales.

2^{eme} Edition, 1999

24- CRUMPLIN G.C.

Mechanisms of resistance to the quinolones antibacterial agents

J. Antimicrob.Chem, 1990: 26 suppl f: 131-144

25- DOPFTC R., MAY Th., CANTON Ph.

Acide fusidique

Edition technique EMC (paris, France)

Maladies infectieuses, 8-004-j 20 1993- 2p

26- DUVAL J.

Classification et mécanisme d'action des agents antimicrobiens. Bactériologie médicale

In Le Minor et Veron , Ed Flammarion Paris 1989

27- Dr AGNES LEPOUTRE

Directeur général de la santé en France.

Communication partenaire santé ,1995 p-11

**28- ENQUETE NATIONALE DE PREVALENCE DES INFECTIONS
NOSOCOMIALES, 1996 DU BULLETIN EPIDEMIOLOGIQUE
HEBDOMADAIRE**

BEH : 1997-16

29- FLORES M.R., HALEY J.A., ROSS T.W., LEE H.

Vancomycine-resistant entereococci approach to treatment and control

Canc. Contr. J., 1996; (3): 1-8

30- GIVENS CD., WENZEL R.P.

Catheter associated urinary tract infections in surgical patients: a controled study on the examen morbidity and costs

31-GOERING R.V., WINTERS M.A.

Rapid method for epidemiological evaluation of gram positive cocci by field in version gel electrophoresis

J. Clin. Microbiol., 1992 ; 30 (3):577-580

32-GROUPE DES SURVEILLANCES DU RELAIS REGIONAL D'HYGIENE HOSPITALIERE DU CENTRE

Première surveillance multicentrique des bactériémies en région centre

BEH: 2001-16

33- HALEY R.W.

The scientific basis for using surveillance and risk factor data to reduce nosocomial infection rates.

J Hosp. Infect., 1995; 30 (Supplement, 3-14)

34-HALEY RW et al

The national wide nosocomial rate

Increased recognition of infection disease in US hospitals.

The efficacy of infection surveillance and control programs.

Identifying high risk surgical patients.

35- HEBERT G.A, COOKSEY R.C., CLARK N.C., HILL B.C., JARVIS

W. C, THORNSBERRY .C

Biotyping coagulase negative staphylococci

J. Clin. Microbial., 1988; 26 (10) 1950-1956

36- HYGIS N

Hygiène hospitalière

Collection AZAY Presse Universitaire de Lyon : 1998 ; p-389

37- HUGUES J.M and JARVIS W.R

Epidemiology of nosocomial infection

Manual of clinical microbiology

Fourth edition, Washington 1985, pp 99-104

38- KENNET T.

Bacteriology 330 lecture topics

Bacterial resistance to antibiotics 1996

39- LE GRAND P., FOURNIER G., BURE A., SARLIER V., NICOLAS

D.G.

Detection of extended broad-spectrum betalactamases in *enterobacteriaceae*

In four French hospitals

40- LE MINOR L., VERON M.

Bactériologie médicale, 2^{ème} édition

Flammarion, Médecine, Science, Paris, 1989 ; 333-318,773-828

41- LIDWELL O.M., ELSON R.A., LOWBURY E. J.L et coll

Ultra clean, air and antibiotics for prevention of post operative infection.

A multicenter study of 8052 joint replacement operations

Act. Orthop .Scan., 1987; (58): 4-13

42- LIDWELL O.M., LOWBURY E. J.L., WHYTE W., BLOWERS R.,

STANLEY S.J., LOWE D

Airborne contamination of wounds in joint replacement operations.

The relationship to sepsis rates

J. Hosp. Infect., 1983 ; (2) 111-131

43- LOLOMBANI J.C., SIRAJEDDINEK S., COLOMB H.

Bilan des infections nosocomiales dans un service de long séjour d'un centre hospitalier général

Med. Mal. Infect., 1993; 23: 42-43

44- MALVY D., SIRVAIN .A, BORTEL H.J, BRUKEI J. and al

Enquête de prévalence des infections nosocomiales au CHU Tours

Med. Mal. Infect., 1993, 23:607-19

45- MOINAR D.

Examen cytobactériologique des urines.

In Bactériologie Médicale, Techniques usuelles

Ed. Simep, Paris, 1987 : 53-58

46- MANSONNET M et VILAIN R

L'hospitalisme infectieux en chirurgie

Press. Med., 1990 ; (6) : 245-246

47- MINARDI J.L ., GOLDSATEIN F.W.,GUTMAN L.

Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

Encycl . Med .Chir. (Elvesier, Paris). Maladies infectieuses, 8-006 N-10, 1996 8p

48- MISSET B., TIMSIT J.f., GARONSTE M., ORGEAS P.

Service de réanimation polyvalente

Fondation hôpital St Joseph, p-1

49- NDOYE B., HUGARD L.

Septicémies nosocomiales à entérobactéries multi résistantes aux antibiotiques

A propos de 32 cas survenus en 2 mois dans le service de pédiatrie de l'hôpital de dakar.

Médecine Tropicale. 1995, 4,55, 534-536

50- PLATT.R, PORK BF, MURDOCK and al

Mortality associated with nosocomial urinary infection.

New.Engl. J. Med., 1982; 307:637-42

51- PECHER J.C., KHOURY S.

La resistance bactérienne

In Urology : Pathologie infectieuse et parasitaire

Edition Masson, Paris, 1985, 32-35

52- PREVOST G., JAVLHAC B., PIEMONTE J.A.

DNA finger printing by pulsed. Field gel electrophoresis more effective than ribotyping in distinguishing among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates.

J. Clin.Microbiol., 1992 ; 30 (4) : 967 -973

53- RECOMMANDATION EN MATIERE D'ENREGISTREMENT DES INFECTIONS NOSOCOMIALES

Conseil d'hygiène (Ministère de la santé)

Monographie 1990

54- REINER

Antibiotic: An introduction

Roche. Sc, Service, New York 1982

55-RESEAU MICROBIOLOGIQUE DU CLIN DE PARIS NORD ET GROUPE DES MICROBIOLOGISTES DE L'Ile DE FRANCE.

Surveillance des bactériémies nosocomiales à partir du Laboratoire dans les hôpitaux de l'inter région Paris Nord en 1994 et 1996.

BEH : 2000-18

56-SEYDOU NIANG

Infections urinaires nosocomiales

Incidence et facteurs de risques au service d'urologie du CHU le Dantec

Thèse pharm. Dakar 2001 n° 20

57- SMITH P.B.

Biotyping its value as on epidemiological tool

Clin.Microbial. New sly., 1983; 5: 165-166

58- SMITH P.B.

Bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*,

In Jo. Cohen Ed The Staphylococcus weily interscience New York., 1972; pp 431-441

59-STAMM P.W.

Catheter associated urinary tract infection epidemiology pathogenesis and prevention

Am.J.Med. 1991; 91 (suppl 3B) 65-71

60- VERDEIL X., BERTRAND M.A., ROCHE R., LARENG M.B.,

PARS J.

Épidémiologie clinique et micro biologique des infections nosocomiales en chirurgie. Etude prospective portant sur 3422 malades hospitalisés au CHU de toulouse.

Med.Mal. Inf., 1990 ; 20 (5) : 222-228

61-VEYSSE P .DOMMART Y.

Infection nosocomiale (infection urinaire : 79-89)

Abrége Masson, Paris 1996

62-WADJI S.

Etude comparative des différentes méthodes de détection des bêta-lactamines sur des souches isolées à Dakar

Thèse pharm. Dakar 1993 n° 83

