

UNIVERSITE MOHAMMED V

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2011

THESE N°: 84

**LE PROFIL DE SENSIBILITE DES PRINCIPALES BACTERIES
ISOLEES DES PRELEVEMENTS PULMONAIRES ESSENTIELLEMENT
LES PRELEVEMENTS DISTAUX PROTEGES
A L'EXCEPTION DES MYCOBACTERIES**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle. Meryam ZANZOUL

Née le 18 Mars 1986 à Salé

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES: Bactéries – Profil de sensibilité – Prélèvements distaux protégés –

HMIMV – Rabat.

JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

Mme. S. EL HAMZAoui

Professeur de Microbiologie

Mme. N. MESSAOUDI

Professeur Agrégé d'Hématologie Biologique

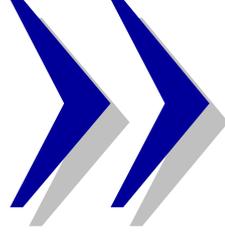
Mr. I. ABDERRAHMANI RHORFI

Professeur Agrégé de Pneumologie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES



سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا
إنك أنت العليم الحكيم

و

سورة البقرة: الآية: 31



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ

1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH

1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK

1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI

1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI

1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Najia HAJJAJ

Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes

Professeur Mohammed JIDDANE

Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération

Professeur Ali BENOMAR

Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie

Professeur Yahia CHERRAH

Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLI Abdeslam Neurochirurgie

4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed
7. Pr. HAMANI Ahmed*
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih
9. Pr. SBIHI Ahmed
10. Pr. TAOBANE Hamid*

Cardiologie
Traumatologie-Orthopédie
Cardiologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Anesthésie –Réanimation
Chirurgie Thoracique

11. Mai et Novembre 1982

12. Pr. ABROUQ Ali*
13. Pr. BENOMAR M'hammed
14. Pr. BENSOUDA Mohamed
15. Pr. BENOSMAN Abdellatif
16. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Physiologie

Novembre 1983

17. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
18. Pr. BALAFREJ Amina
19. Pr. BELLAKHDAR Fouad
20. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
21. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

22. Pr. BOUCETTA Mohamed*
23. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
24. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
25. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
26. Pr. NAJI M'Barek *
27. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

28. Pr. BENJELLOUN Halima
29. Pr. BENSAID Younes
30. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
31. Pr. IHRAI Hssain *
32. Pr. IRAQI Ghali
33. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
athologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

34. Pr. AJANA Ali
35. Pr. AMMAR Fanid

Radiologie
Pathologie Chirurgicale

36. Pr. CHAHED OUAZZANI Houria ép.TAOBANE	Gastro-Entérologie
37. Pr. EL FASSY FIIHRI Mohamed Taoufiq	Pneumo-phthisiologie
38. Pr. EL HAITEM Naïma	Cardiologie
39. Pr. EL MANSOURI Abdellah*	Chimie-Toxicologie Expertise
40. Pr. EL YAACOUBI Moradh	Traumatologie Orthopédie
41. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah	Gastro-Entérologie
42. Pr. LACHKAR Hassan	Médecine Interne
43. Pr. OHAYON Victor*	Médecine Interne
44. Pr. YAHYAOUI Mohamed	Neurologie

Décembre 1988

45. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
46. Pr. DAFIRI Rachida	Radiologie
47. Pr. FAIK Mohamed	Urologie
48. Pr. HERMAS Mohamed	Traumatologie Orthopédie
49. Pr. TOLOUNE Farida*	Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

50. Pr. ADNAOUI Mohamed	Médecine Interne
51. Pr. AOUNI Mohamed	Médecine Interne
52. Pr. BENAMEUR Mohamed*	Radiologie
53. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali	Cardiologie
54. Pr. CHAD Bouziane	Pathologie Chirurgicale
55. Pr. CHKOFF Rachid	Urologie
56. Pr. KHARBACH Aïcha	Gynécologie -Obstétrique
57. Pr. MANSOURI Fatima	Anatomie-Pathologique
58. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda	Neurologie
59. Pr. SEDRATI Omar*	Dermatologie
60. Pr. TAZI Saoud Anas	Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

61. Pr. AL HAMANY Zaïtounia	Anatomie-Pathologique
62. Pr. ATMANI Mohamed*	Anesthésie Réanimation
63. Pr. AZZOUZI Abderrahim	Anesthésie Réanimation
64. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM	Néphrologie
65. Pr. BELKOUCHI Abdelkader	Chirurgie Générale
66. Pr. BENABDELLAH Chahrazad	Hématologie
67. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif	Chirurgie Générale
68. Pr. BENSOUDA Yahia	Pharmacie galénique
69. Pr. BERRAHO Amina	Ophtalmologie
70. Pr. BEZZAD Rachid	Gynécologie Obstétrique
71. Pr. CHABRAOUI Layachi	Biochimie et Chimie

72. Pr. CHANA El Houssaine*
 73. Pr. CHERRAH Yahia
 74. Pr. CHOKAIRI Omar
 75. Pr. FAJRI Ahmed*
 76. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
 77. Pr. KHATTAB Mohamed
 78. Pr. NEJMI Maati
 79. Pr. OUAALINE Mohammed*
 80. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH
 81. Pr. TAOUFIK Jamal

Ophtalmologie
 Pharmacologie
 Histologie Embryologie
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Anesthésie-Réanimation
 Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
 Pharmacologie
 Chimiothérapeutique

Décembre 1992

82. Pr. AHALLAT Mohamed
 83. Pr. BENOUDA Amina
 84. Pr. BENSOUADA Adil
 85. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
 86. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
 87. Pr. CHRAIBI Chafiq
 88. Pr. DAOUDI Rajae
 89. Pr. DEHAYNI Mohamed*
 90. Pr. EL HADDOURY Mohamed
 91. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
 92. Pr. FELLAT Rokaya
 93. Pr. GHAFIR Driss*
 94. Pr. JIDDANE Mohamed
 95. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
 96. Pr. TAGHY Ahmed
 97. Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Gastro-Entérologie
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Anesthésie Réanimation
 Neurochirurgie
 Cardiologie
 Médecine Interne
 Anatomie
 Gynécologie Obstétrique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie

Mars 1994

98. Pr. AGNAOU Lahcen
 99. Pr. AL BAROUDI Saad
 100. Pr. BENCHERIFA Fatiha
 101. Pr. BENJAAFAR Nouredine
 102. Pr. BENJELLOUN Samir
 103. Pr. BEN RAIS Nozha
 104. Pr. CAOUI Malika
 105. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
 106. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
 107. Pr. EL AOUAD Rajae
 108. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
 109. Pr. EL HASSANI My Rachid
 110. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
 111. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
 112. Pr. ERROUGANI Abdelkader
 113. Pr. ESSAKALI Malika
 114. Pr. ETTAYEBI Fouad
 115. Pr. HADRI Larbi*
 116. Pr. HASSAM Badredine
 117. Pr. IFRINE Lahssan
 118. Pr. JELTHI Ahmed

Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Ophtalmologie
 Radiothérapie
 Chirurgie Générale
 Biophysique
 Biophysique
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Gynécologie Obstétrique
 Immunologie
 Traumatologie-Orthopédie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Chirurgie Cardio- Vasculaire
 Chirurgie Générale
 Immunologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Médecine Interne
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

119. Pr. MAHFOUD Mustapha
 120. Pr. MOUDENE Ahmed*
 121. Pr. OULBACHA Said
 122. Pr. RHRAB Brahim
 123. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR
 124. Pr. SLAOUI Anas

Traumatologie – Orthopédie
 Traumatologie- Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie –Obstétrique
 Dermatologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire

125. Mars 1994

126. Pr. ABBAR Mohamed*
 127. Pr. ABDELHAK M'barek
 128. Pr. BELAIDI Halima
 129. Pr. BRAHMI Rida Slimane
 130. Pr. BENTAHILA Abdelali
 131. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
 132. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
 133. Pr. CHAMI Ilham
 134. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
 135. Pr. EL ABBADI Najia
 136. Pr. HANINE Ahmed*
 137. Pr. JALIL Abdelouahed
 138. Pr. LAKHDAR Amina
 139. Pr. MOUANE Nezha

Urologie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Neurologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Gynécologie – Obstétrique
 Traumatologie – Orthopédie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Neurochirurgie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie

Mars 1995

140. Pr. ABOUQUAL Redouane
 141. Pr. AMRAOUI Mohamed
 142. Pr. BAIDADA Abdelaziz
 143. Pr. BARGACH Samir
 144. Pr. BEDDOUCHE Amocrane*
 145. Pr. BENAZZOUZ Mustapha
 146. Pr. CHAARI Jilali*
 147. Pr. DIMOU M'barek*
 148. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
 149. Pr. EL MESNAOUI Abbes
 150. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
 151. Pr. FERHATI Driss
 152. Pr. HASSOUNI Fadil
 153. Pr. HDA Abdelhamid*
 154. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
 155. Pr. IBRAHIMY Wafaa
 156. Pr. MANSOURI Aziz
 157. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
 158. Pr. RZIN Abdelkader*
 159. Pr. SEFIANI Abdelaziz
 160. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Gynécologie Obstétrique
 Urologie
 Gastro-Entérologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gynécologie Obstétrique
 Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
 Cardiologie
 Urologie
 Ophtalmologie
 Radiothérapie
 Ophtalmologie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Génétique
 Réanimation Médicale

Décembre 1996

161. Pr. AMIL Touriya*
 162. Pr. BELKACEM Rachid
 163. Pr. BELMAHI Amin
 164. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim

Radiologie
 Chirurgie Pédiatrie
 Chirurgie réparatrice et plastique
 Ophtalmologie

165. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale
166. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*	Parasitologie
167. Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
168. Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
169. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
170. Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
171. Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
172. Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
173. Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
174. Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

Novembre 1997

175. Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
176. Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
177. Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
178. Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
179. Pr. BOULAICH Mohamed	O.R.L.
180. Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
181. Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
182. Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
183. Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie
184. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
185. Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
186. Pr. KANOUNI NAWAL	Physiologie
187. Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
188. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
189. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
190. Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
191. Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
192. Pr. SAFI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
193. Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
194. Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

195. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
196. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-phtisiologie
197. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
198. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
199. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
200. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
201. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
202. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
203. Pr. LAZRAK Khalid (M)	Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

204. Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
205. Pr. KHATOURI ALI*	Cardiologie
206. Pr. LABRAIMI Ahmed*	Anatomie Pathologique

Janvier 2000

207. Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
208. Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
209. Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie
210. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
211. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-phtisiologie
212. Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
213. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
214. Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
215. Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-phtisiologie
216. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
217. Pr. EL OTMANY Azzedine	Chirurgie Générale
218. Pr. GHANNAM Rachid	Cardiologie
219. Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
220. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
221. Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie
222. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss	Gastro-Entérologie
223. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*	Anesthésie-Réanimation
224. Pr. TACHINANTE Rajae	Anesthésie-Réanimation
225. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida	Médecine Interne

Novembre 2000

226. Pr. AIDI Saadia	Neurologie
227. Pr. AIT OURHROUI Mohamed	Dermatologie
228. Pr. AJANA Fatima Zohra	Gastro-Entérologie
229. Pr. BENAMR Said	Chirurgie Générale
230. Pr. BENCHEKROUN Nabiha	Ophtalmologie
231. Pr. CHERTI Mohammed	Cardiologie
232. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma	Anesthésie-Réanimation
233. Pr. EL HASSANI Amine	Pédiatrie
234. Pr. EL IDGHIRI Hassan	Oto-Rhino-Laryngologie
235. Pr. EL KHADER Khalid	Urologie
236. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*	Rhumatologie
237. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
238. Pr. HSSAIDA Rachid*	Anesthésie-Réanimation
239. Pr. LACHKAR Azzouz	Urologie
240. Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie

- | | |
|-------------------------------|---|
| 241. Pr. MAFTAH Mohamed* | Neurochirurgie |
| 242. Pr. MAHASSINI Najat | Anatomie Pathologique |
| 243. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae | Pédiatrie |
| 244. Pr. NASSIH Mohamed* | Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale |
| 245. Pr. ROUIMI Abdelhadi | Neurologie |

Décembre 2001

- | | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|
| 246. Pr. ABABOU Adil | Anesthésie-Réanimation |
| 247. Pr. AOUAD Aicha | Cardiologie |
| 248. Pr. BALKHI Hicham* | Anesthésie-Réanimation |
| 249. Pr. BELMEKKI Mohammed | Ophtalmologie |
| 250. Pr. BENABDELJLIL Maria | Neurologie |
| 251. Pr. BENAMAR Loubna | Néphrologie |
| 252. Pr. BENAMOR Jouda | Pneumo-phtisiologie |
| 253. Pr. BENELBARHDADI Imane | Gastro-Entérologie |
| 254. Pr. BENNANI Rajae | Cardiologie |
| 255. Pr. BENOACHANE Thami | Pédiatrie |
| 256. Pr. BENYOUSSEF Khalil | Dermatologie |
| 257. Pr. BERRADA Rachid | Gynécologie Obstétrique |
| 258. Pr. BEZZA Ahmed* | Rhumatologie |
| 259. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi | Anatomie |
| 260. Pr. BOUHOUCHE Rachida | Cardiologie |
| 261. Pr. BOUMDIN El Hassane* | Radiologie |
| 262. Pr. CHAT Latifa | Radiologie |
| 263. Pr. CHELLAOUI Mounia | Radiologie |
| 264. Pr. DAALI Mustapha* | Chirurgie Générale |
| 265. Pr. DRISSE Sidi Mourad* | Radiologie |
| 266. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira | Gynécologie Obstétrique |
| 267. Pr. EL HIJRI Ahmed | Anesthésie-Réanimation |
| 268. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid | Neuro-Chirurgie |
| 269. Pr. EL MADHI Tarik | Chirurgie-Pédiatrique |
| 270. Pr. EL MOUSSAIF Hamid | Ophtalmologie |
| 271. Pr. EL OUNANI Mohamed | Chirurgie Générale |
| 272. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil | Radiologie |
| 273. Pr. ETTAIR Said | Pédiatrie |
| 274. Pr. GAZZAZ Miloudi* | Neuro-Chirurgie |
| 275. Pr. GOURINDA Hassan | Chirurgie-Pédiatrique |
| 276. Pr. HRORA Abdelmalek | Chirurgie Générale |
| 277. Pr. KABBAJ Saad | Anesthésie-Réanimation |
| 278. Pr. KABIRI EL Hassane* | Chirurgie Thoracique |
| 279. Pr. LAMRANI Moulay Omar | Traumatologie Orthopédie |
| 280. Pr. LEKEHAL Brahim | Chirurgie Vasculaire Périphérique |
| 281. Pr. MAHASSIN Fattouma* | Médecine Interne |

282. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
283. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
284. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
285. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
286. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
287. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
288. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
289. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
290. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie
291. Pr. TAZI MOUKHA Karim	Urologie
292. <u>Décembre 2002</u>	
293. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
294. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
295. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
296. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
297. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
298. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
299. Pr. BENBOUAZZA Karima	Rhumatologie
300. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
301. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
302. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
303. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
304. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
305. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
306. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
307. Pr. EL ALJ Haj Ahmed	Urologie
308. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
309. Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
310. Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
311. Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
312. Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
313. Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
314. Pr. HAJJI Zakia	Ophtalmologie
315. Pr. IKEN Ali	Urologie
316. Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
317. Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
318. Pr. KRIOULE Yamina	Pédiatrie
319. Pr. LAGHMARI Mina	Ophtalmologie
320. Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
321. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
322. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
323. Pr. MOUSTAINE My Rachid	Traumatologie Orthopédie
324. Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
325. Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie

326. Pr. RACHID Khalid *
 327. Pr. RAISS Mohamed
 328. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 329. Pr. RHOU Hakima
 330. Pr. SIAH Samir *
 331. Pr. THIMOU Amal
 332. Pr. ZENTAR Aziz*
 333. Pr. ZRARA Ibtisam*

Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

334. Pr. ABDELLAH El Hassan
 335. Pr. AMRANI Mariam
 336. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 337. Pr. BENKIRANE Ahmed*
 338. Pr. BENRAMDANE Larbi*
 339. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 340. Pr. BOULAADAS Malik
 341. Pr. BOURAZZA Ahmed*
 342. Pr. CHAGAR Belkacem*
 343. Pr. CHERRADI Nadia
 344. Pr. EL FENNI Jamal*
 345. Pr. EL HANCHI ZAKI
 346. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 347. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 348. Pr. HACHI Hafid
 349. Pr. JABOUIRIK Fatima
 350. Pr. KARMANE Abdelouahed
 351. Pr. KHABOUZE Samira
 352. Pr. KHARMAZ Mohamed
 353. Pr. LEZREK Mohammed*
 354. Pr. MOUGHIL Said
 355. Pr. NAOUMI Asmae*
 356. Pr. SAADI Nozha
 357. Pr. SASSENOU ISMAIL*
 358. Pr. TARIB Abdelilah*
 359. Pr. TIJAMI Fouad
 360. Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Chimie Analytique
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Traumatologie Orthopédie
 Urologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Gastro-Entérologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

361. **Janvier 2005**

362. Pr. ABBASSI Abdellah
 363. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 364. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
 365. Pr. ALLALI Fadoua
 366. Pr. AMAR Yamama
 367. Pr. AMAZOUZI Abdellah

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Rhumatologie
 Néphrologie
 Ophtalmologie

368. Pr. AZIZ Nouredine*	Radiologie
369. Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
370. Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
371. Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
372. Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
373. Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
374. Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
375. Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie
376. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
377. Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
378. Pr. EL HAMZAOUI Sakina	Microbiologie
379. Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
380. Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie
381. Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
382. Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
383. Pr. KENDOUSI Mohamed*	Cardiologie
384. Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
385. Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
386. Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie
387. Pr. RAGALA Abdelhak	Gynécologie Obstétrique
388. Pr. SBIHI Souad	Histo-Embryologie Cytogénétique
389. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam	Ophtalmologie
390. Pr. ZERAIDI Najia	Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
424. Pr. AFIFI Yasser	Dermatologie
425. Pr. AKJOUJ Said*	Radiologie
426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra	Dermatologie
427. Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
428. Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
429. Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine	Chirurgie - Pédiatrique
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*	Chirurgie Cardio – Vasculaire
432. Pr. CHEIKHAOUI Younes	Chirurgie Cardio – Vasculaire
433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas	Gynécologie Obstétrique
434. Pr. DOGHMI Nawal	Cardiologie
435. Pr. ESSAMRI Wafaa	Gastro-entérologie
436. Pr. FELLAT Ibtissam	Cardiologie
437. Pr. FAROUDY Mamoun	Anesthésie Réanimation
438. Pr. GHADOUANE Mohammed*	Urologie
439. Pr. HARMOUCHE Hicham	Médecine Interne
440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*	Anesthésie Réanimation

441. Pr. IDRISS LAHLOU Amine	Microbiologie
442. Pr. JROUNDI Laila	Radiologie
443. Pr. KARMOUNI Tariq	Urologie
444. Pr. KILI Amina	Pédiatrie
445. Pr. KISRA Hassan	Psychiatrie
446. Pr. KISRA Mounir	Chirurgie – Pédiatrique
447. Pr. KHARCHAFI Aziz*	Médecine Interne
448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*	Pharmacie Galénique
449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*	Parasitologie
450. Pr. MANSOURI Hamid*	Radiothérapie
451. Pr. NAZIH Naoual	O.R.L
452. Pr. OUANASS Abderrazzak	Psychiatrie
453. Pr. SAFI Soumaya*	Endocrinologie
454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra	Psychiatrie
455. Pr. SEFIANI Sana	Anatomie Pathologique
456. Pr. SOUALHI Mouna	Pneumo – Phtisiologie
457. Pr. TELLAL Saida*	Biochimie
458. Pr. ZAHRAOUI Rachida	Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila	Anatomie pathologique
459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid	Anesthésie réanimation
460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid	Anesthésier réanimation
461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *	Anesthésie réanimation
462. Pr. BAITE Abdelouahed *	Anesthésie réanimation
463. Pr. TOUATI Zakia	Cardiologie
464. Pr. OUZZIF Ez zohra *	Biochimie
465. Pr. BALOUCH Lhousaine *	Biochimie
466. Pr. SELKANE Chakir *	Chirurgie cardio vasculaire
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *	Chirurgie cardio vasculaire
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *	Chirurgie cardio vasculaire
469. Pr. EL ABSI Mohamed	Chirurgie générale
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *	Chirurgie générale
471. Pr. ACHOUR Abdessamad *	Chirurgie générale
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*	Chirurgie générale
473. Pr. GHARIB Noureddine	Chirurgie plastique
474. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
475. Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
476. Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
477. Pr. RABHI Monsef *	Médecine interne
478. Pr. MRABET Mustapha *	Médecine préventive santé publique et hygiène
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *	Microbiologie

480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhoussain *	Microbiologie
482. Pr. MRANI Saad *	Virologie
483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUIFI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMAHZOUNE Brahim *	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique

Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. DOGHMI Kamal *
Pr. ABOUZAHIR Ali *
Pr. ENNIBI Khalid *
Pr. EL OUENNASS Mostapha
Pr. ZOUHAIR Said*
Pr. L'kassimi Hachemi*
Pr. AKHADDAR Ali *
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AGADR Aomar *
Pr. KARBOUBI Lamyia
Pr. MESKINI Toufik
Pr. KABIRI Meryem
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. BASSOU Driss *
Pr. ALLALI Nazik
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. AMINE Bouchra
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
Pr. KADI Said *

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. CHERRADI Ghizlan
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. ALILOU Mustapha
Pr. KANOUNI Lamyia
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. MALIH Mohamed*
Pr. BOUSSIF Mohamed*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. RAISSOUNI Zakaria*
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. LEZREK Mounir
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. LAMALMI Najat
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Hématologie biologique
Hématologie clinique
Médecine interne
Médecine interne
Microbiologie
Microbiologie
Microbiologie
Neuro-chirurgie
Neurologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Rhumatologie
Rhumatologie
Traumatologie orthopédique
Traumatologie orthopédique

Médecine interne
Gastro entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie réanimation
Radiothérapie
Radiologie
Radiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Médecine aérologique
Chirurgie plastique et réparatrice
Chirurgie pédiatrique
Urologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
ORL
Ophtalmologie
Hématologie
Anatomie pathologique
Anatomie pathologique

Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. CHADLI Mariama*

Physiologie
Biochimie chimie
Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES
PROFESSEURS

- | | |
|------------------------------------|--|
| 1. Pr. ABOUDRAR Saadia | Physiologie |
| 2. Pr. ALAMI OUHABI Naima | Biochimie |
| 3. Pr. ALAOUI KATIM | Pharmacologie |
| 4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma | Histologie-Embryologie |
| 5. Pr. ANSAR M'hammed | Chimie Organique et Pharmacie Chimique |
| 6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz | Applications Pharmaceutiques |
| 7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed | Génétique Humaine |
| 8. Pr. BOURJOUANE Mohamed | Microbiologie |
| 9. Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia | Biochimie |
| 10. Pr. DAKKA Taoufiq | Physiologie |
| 11. Pr. DRAOUI Mustapha | Chimie Analytique |
| 12. Pr. EL GUESSABI Lahcen | Pharmacognosie |
| 13. Pr. ETTAIB Abdelkader | Zootecnie |
| 14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas | Pharmacologie |
| 15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed | Chimie Organique |
| 16. Pr. IBRAHIMI Azeddine | |
| 17. Pr. KABBAJ Ouafae | Biochimie |
| 18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine | Biologie |
| 19. Pr. REDHA Ahlam | Biochimie |
| 20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med | Chimie Organique |
| 21. Pr. TOUATI Driss | Pharmacognosie |
| 22. Pr. ZAHIDI Ahmed | Pharmacologie |
| 23. Pr. ZELLOU Amina | Chimie Organique |

* *Enseignants Militaires*



Dédicaces

Je dédie cette thèse...

- ✧ *A mes chers parents : Que cette thèse vous traduise ma profonde affection et ma reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi. Qu'ALLAH vous procure santé et longue vie.*
- ✧ *A ma chère sœur et mes chers frères : Avec mes souhaits de bonheur et de réussite dans tous les domaines de la vie*
- ✧ *A toute ma grande famille ; mes oncles et mes tantes, mes cousins et cousines. : Avec toute mon affection et mes meilleurs souhaits de santé et de bonheur.*
- ✧ *A la mémoire de mes grands parents : Que Dieu les bénisse.*
- ✧ *A tous mes amis et mes collègues.*
- ✧ *A tous ceux que j'ai omis de citer.*

Meryam.



J'adresse mes sincères remerciements. . .

A notre maître Et président de jury,

*De nous faire l'honneur de présider cette thèse, Veuillez accepter,
cher maître, l'assurance de mon estime et de mon profond respect.*

*A notre chère encadrant, je vous remercie pour votre aide, collaboration et
extrême gentilles qui m'ont toujours encouragé durant ce labeur, Vous
m'avez toujours réservé un bon accueil malgré vos obligations
professionnelles, je suis très heureuse d'avoir accomplie ce travail à vos cotés*

*A nos Honorables membres de jury d'avoir répondu présents pour assister
et juger notre travail, C'est pour nous un honneur de vous avoir dans notre
jury.*

Liste des abréviations

HMIMV	: Hôpital Militaire d'Instructions Mohammed V
PDP	: Prélèvement distal protégé
AB	: Aspiration bronchique
ECBC	: Examen cyto bactériologique du crachat
LBA	: Lavage broncho alvéolaire
LP	: Liquide pleurale
BGN	: Bacille gram négatif
BGP	: Bacille gram positif
CGP	: Coccis gram positif
CDS	: Culture demeurant stérile
AGP	: Absence de germe pathogène
PLP	: Protéine liant la pénicilline
SARM	: Staphylocoque résistant à la méticilline
BLSE	: Bétalactamase à spectre élargie
Méti-R	: Multirésistance à toutes les Bétalactamines
PAVM	: Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique
VM	: Ventilation mécanique
Péni G, V, M, A	: Pénicillines G, V, M, A
Carboxypeni	: Carboxypénicillines
Ac. Cl	: Acide clavulanique
Uréidopeni.	: Uréidopénicillines
IβL	: Inhibiteurs de bétalactamases

Listes des figures et Tables des illustrations

Figure 1 : Anatomie du poumon.....	5
Figure 2 : Vascularisation du poumon	6
Figure 3 : Prélèvement distale protégé, lab. microbiologie HMIMV-RABAT.....	15
Figure 4 : Différents aspects des prélèvements.....	17
Figure 5 : État frais entre lame et lamelle	18
Figure 6 : État frais dans une cellule de nageotte.....	19
Figure 7 : Couleurs et formes observées en coloration Gram	19
Figure 8 : Coloration de Ziehl-Neelsen (a gauche) et coloration fluorescente a l'auramine (a droite)	21
Figure 9 : <i>Pneumocoque</i> (A) et <i>Borrelia burgdorferi</i> (B) sous coloration MGG.....	21
Figure10 : Microscopie à fluorescence, rayons UV	22
Figure11 : Coloration par anticorps fluorescents	22
Figure12 : Réflexion de la lumière par <i>Treponema pallidum</i> sur un fond noir.....	23
Figure13 : <i>Cryptococcus neoformans</i>	23
Figure14 : Individualisation d'un corps d'inclusion à <i>Chlamydia trachomatis</i>	23
Figure15 : Exemple d'imprégnation argentique pour la recherche de <i>Treponema pallidum</i> (spirochète) ; Exemple de coloration de la spore (Moeller) d'une souche de <i>Clostridium</i> ; Exemple de coloration flagellaire (Leifson) d'une souche de <i>Vibrio</i>	24
Figure16 : Ensemencement orthogonal des milieux gélosés dans des boites de pétri	25
Figure17 : Exemples de milieux solides coulés en boite de Pétri selon le produit pathologique et la demande.....	25
Figure18 : Exemples de milieux liquides	26
Figure19 : Etuve de culture aérobie et garre d'anaérobie	26
Figure20 : Prélèvement de gorge avec de nombreuses colonies β -hémolytiques (gélouse au sang frais)	27

Figure 21 : Expectoration avec de nombreuses colonies soit alpha-hémolytiques et muqueuses évoquant un pneumocoque, soit petites et brillantes évoquant une souche de <i>Haemophilus influenzae</i> (gélose au sang cuit ou gélose chocolat)	28
Figure 22 : Identification d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Proteus mirabilis</i> par un ensemble de réactions du métabolisme intermédiaire avec la galerie commerciale API20E	29
Figure 23 : Identification des germes à partir des codes rapportés sur la fiche d'identification ..	31
Figure 24 : AntibioGramme d'une <i>E. coli</i> BLSE, lab. microbiologie, HMIMV, Rabat	37
Figure 25, 26 : Recherche des bétalactamases par le test de synergie in vitro.....	46
Figure 27 : Différents site d'action des enzymes inactivant les aminosides	47
Figure 28 : La synthèse d'acide folique chez les bactéries et son inhibition par les antibiotiques	51
Figure 29 : Répartition des tranches d'âge, lab. microbiologie HMIM V -Rabat - 2009-2010 ...	64
Figure 30 : Répartition du sexe, lab. microbiologie HMIM V -Rabat - 2009-2010	65
Figure 31 : Répartition des patients en fonction des services, laboratoire microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010.....	67
Figure 32 : Répartition des prélèvements selon leur nature, lab. microbiologie HMIMV-Rabat 2009-2010.....	68
Figure 33 : Répartition des bactéries selon leur forme, Lab. microbiologie HMIMV-RABAT 2009-2010.....	69
Figure 34 : Répartition des espèces bactériennes dans tous les prélèvements lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	71
Figure 35 : Répartissant des bactéries dans les PDP, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	73
Figure 36 : Répartissant des bactéries dans les ECBC, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	75
Figure 37 : Répartissant des bactéries dans les AB, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	76
Figure 38 : Répartissant des bactéries dans les LP, laboratoire microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	77

Figure 39 : Les phénotypes de résistances chez Acinetobacter, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	78
Figure 40 : Répartition de l'Acinetobacter au niveau des services, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	79
Figure 41 : Répartition des phénotypes de résistances chez Pseudomonas, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010.....	80
Figure 42 : Les phénotypes de résistances chez Staphylocoques Aureus, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010.....	81
Figure 43 : Les phénotypes de résistances chez Klebsiella, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	82
Figure 44 : Ensemencement en étoile sur gélose au sang, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	
Figure 45 : Ensemencement en cadrant sur milieu chocolat, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	

Tableau 1 : Phénotype de résistance des entérobactéries aux b-lactamines, <i>Bacteriofiches</i> de J-L FAUCHERE, éd. ellipse 1997.	36
Tableau 2 : Principales caractéristiques des bêta-lactamases	41
Tableau 3 : Action des bêta-lactamases sur les bêta-lactamines	42
Tableau 4 : Les différents types des mécanismes de résistances qui touchent les principaux antibiotiques	54
Tableau 5 : Moyenne d'âge des patients, lab. microbiologie HMIM V Rabat 2009-2010.....	63
Tableau 6 : Répartition de tranche d'âge, prélèvement pulmonaire, lab. microbiologie HMIM V -Rabat - 2009-2010.....	63
Tableau 7 : Répartition des patients en fonction du sexe, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010.....	65
Tableau 8 : Répartition des patients en fonction des services, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	66
Tableau 9 : Répartition des prélèvements pulmonaires selon leur nature, lab. microbiologie HMIMV-Rabat 2009-2010.....	68
Tableau 10 : Répartition des formes des bactéries rencontrées en Bacilles et Coccis, Lab. microbiologie HMIMV-RABAT 2009-2010	69
Tableau 11 : Les espèces bactériennes retrouvées dans les différents prélèvements pulmonaires. Lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	70
Tableaux 12 : Les espèces bactériennes isolées dans les PDP, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	72
Tableaux 13 : Les espèces bactériennes isolées dans les ECBC, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	74
Tableaux 14 : Les espèces bactériennes isolées des AB, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	76
Tableaux 15 : Les espèces bactériennes des LP, lab. microbiologie HMIM V Rabat 2009-2010	77

Tableau 16 : Phénotypes de résistance d'Acinetobacter, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010.....	78
Tableau17 : L'Acinetobacter baumannii au niveau des services, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	79
Tableau 18 : Phénotypes de résistance de Pseudomonas, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010.....	80
Tableau 19 : Phénotypes de résistance de Staphylocoques Aureus, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010	81
Tableau 20 : Phénotypes de résistance de Klebsiella, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010.....	82
Tableau 21 : Pourcentages de résistances des principales bactéries isolées dans les prélèvements pulmonaires, Lab. Microbiologie, HMIMV-Rabat. 2009-2010	83
Tableau 22 : Comparaison des pourcentages des bactéries retrouvées dans notre étude avec trois autres études	91
Tableau 23 : Phénotypes de résistances de Pseudomonas aeruginosa aux bétalactamines.....	93
Tableau 24 : Schéma de détermination des mécanismes des résistances d'Acinetobacter.....	94
Tableau 25 : Evolution de la résistance d'Acinetobacter baumannii au sein de l'HMIMV- Rabat.....	95
Tableau 26 : Classification des crachats (Bartlett, Murray et Washington) en fonction du degré de contamination par la salive	102

Sommaire

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE	4
I. LES INFECTIONS RESPIRATOIRES BASSES	5
I-1 Rappel anatomique	5
I-2 Définitions	6
I-3 Types	7
I-4 Classification	8
I-4-1 Les infections bronchiques	8
I-4-1-1 Aigues	8
I-4-1-2 Chroniques	8
I-4-2 Les infections pulmonaires	8
I-4-2-1 Primaires	8
I-4-2-2 Secondaires	8
I-4-2-3 La tuberculose	8
II. LES PRELEVEMENTS PULMONAIRES: DEFINITION ET TECHNIQUES.	9
II-1 Crachat et expectorations	10
II-1-1 Indications	10
II-1-2 Techniques	11
II-1-3 Envoi au laboratoire	11
II-2 Aspiration bronchique	11
II-2-1 Techniques et méthodes	11
II-3 Lavage broncho alvéolaire	13
II-3-1 Modalités de l'opération.....	13
II-3-2 Analyse	13
II-4 Prélèvement distal protégé	14
II-4-1 Définition	14
II-4-2 Techniques	14
II-4-3 Avantages.....	15

III. TECHNIQUES DE TRAITEMENT DE PRELEVEMENTS AU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE	16
III-1 Généralités	16
III-2 Diagnostic direct	16
III-2-1 Demande	16
III-2-2 Examen macroscopique	17
III-2-3 Examen microscopique.....	18
III-2-3-1 État frais.....	18
III-2-3-2 Examen après coloration	19
a/Coloration simple.....	19
b/Coloration différentielle.....	19
III-2-3-3 Examen après coloration spéciale : Ziehl-Neelsen.....	20
III-2-3-4 Examen après coloration spéciale : MGG	21
III-2-3-5 Autres types de microscopie.....	22
a/Microscopie à fluorescence (source particulière ; lampe UV).....	22
b/Microscopie au fond noir (condenseur spécial).....	22
c/Microscopie électronique.....	23
III-2-3-6 Autres types de coloration	24
III-2-3-7 Conclusions	24
III-2-4 Culture:	25
III-2-5 Identification des germes par les galeries API:	28
III-2-5-1 Historique	28
III-2-5-2 Principe de l'identification par les galeries API®	29
III-2-6 Antibiogramme.....	32
III-2-6-1 Définition et principe.....	32
III-2-6-2 Méthode de réalisation	32
III-2-6-3 Types d'antibiotiques utilisés selon les groupes de bactéries.....	33
III-2-6-4 Lecture et interprétation.....	37
III-2-6-5 Résistances bactériennes et Catégorisation des germes	38
III-2-6-5-1 Les types de résistance	38
III-2-6-5-2 Les phénotypes de résistance.....	38

III-2-6-5-3 Les niveaux de résistance	39
III-2-6-5-4 Le support génétique de la résistance	39
III-2-6-5-5 Mécanismes de résistance.....	40
□ Modification de la perméabilité membranaire	40
□ Production d'enzymes inactivant les antibiotiques	40
□ Modification de la structure de la cible des antibiotiques.	40
A. Les Enzymes Inactivant Les Antibiotiques	40
1. Les bêta-lactamases	40
2. Les enzymes inactivant les aminosides.....	46
3. Les enzymes inactivant les M.L.S : Macrolides-Lincosamides- Streptogramines).....	48
4. Enzymes inactivant les phenicolés.....	48
B. Résistance Par Diminution De La Perméabilité	48
C. Résistance Par Modification De La Cible	49
1. Modification de protéines liantes les pénicillines (PLP) :.....	49
2. Modification de la cible ribosomale.....	50
3. Altération de la synthèse des acides nucléiques.....	50
III-2-6-5-6 Les bactéries multirésistantes: les "B.M.R"	52
A/Streptococcus pneumoniae	52
B/Staphylocoques méticillino-résistants (Staph. Méti R ou SARM).....	52
C.. Les entérobactéries et souches de Pseudomonas productrices de Céphalosporinase déréprimée.	53
D. Les Acinetobacter	54
III-2-6-5-7 Phénotypes de résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines :	55

DEUXIEME PARTIE	58
I. MATERIEL ET METHODES	59
I-1 L'étude, lieu et période	59
I-2 Matériel	59
I-2-1 Critères d'inclusion	59
I-2-2 Critères d'exclusion.....	59

I-2-3 Recueils des données	59
I-2-4 Exploitations et traitement des données	59
I-3 Méthodes	59
I-3-2 Traitements des prélèvements au laboratoire de microbiologie à l'HMIMV-Rabat	61
I-3-2-1 Examen cyto bactériologique du crachat et aspiration trachéobronchique.....	61
I-3-2-2 Examen cyto bactériologique du lavage broncho alvéolaire	61
I-3-2-3 Examen cyto bactériologique du PDP	61
TROISIEME PARTIE	62
I-RESULTATS	63
I-1 Répartitions des patients selon l'âge et le sexe	63
I-2 répartition des patients selon les services	66
I-3 Répartition des patients selon le type de prélèvements	68
I-4 Fréquences et pourcentages des bactéries rencontrées	69
I-5 Répartition des espèces bactériennes selon les prélèvements	72
I-5-1 Les Prélèvements distaux protégés PDP	72
I-5-2 Les Examen cyto bactériologiques du crachat ECBC	74
I-5-3 Les aspirations bronchiques AB	76
I-5-4 Les liquides pleuraux LP	77
I-6 Répartition des phénotypes de résistances selon les principales bactéries retrouvées	78
I-6-1 Les phénotypes de résistances de l'Acinetobacter Baumannii	78
I-6-2 Les phénotypes de résistances de Pseudomonas aeruginosa	80
I-6-3 les phénotypes de résistances du Staphylocoque aureus	81
I-6-4 les phénotypes de résistances du Klebsiella	82
QUATRIEME PARTIE	89
I.DISCUSSION :	90
II. LIMITE DE L'ETUDE :	96
III. RECOMMANDATIONS :	96
CONCLUSION	99
ANNEXE	

RESUMES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



Introduction

Les infections respiratoires sont la première cause de mortalité par maladie infectieuse dans le monde, et le coût économique et social qu'elles induisent justifie de disposer des méthodes de diagnostic les plus efficaces. La gamme des techniques des prélèvements pulmonaires de mise en évidence directe ou indirecte des agents pathogènes est vaste et couvre l'ensemble des bactéries, virus, parasites et champignons.

Le choix d'une méthode de prélèvement dépend du terrain du patient et du contexte de survenue de l'infection. L'existence d'une flore commensale dans les voies aériennes proximales, la colonisation éventuelle de l'arbre trachéobronchique par des agents pathogènes et une antibiothérapie préalable sont des éléments qui perturbent souvent l'analyse nécessaire à l'évaluation rigoureuse des méthodes de diagnostic des infections respiratoires. Les problèmes posés par le diagnostic des pneumonies acquises sous ventilation artificielle illustrent bien ces difficultés. Par ailleurs, malgré l'essor des techniques moléculaires, des progrès considérables demeurent à faire dans l'intégration et l'évaluation de toutes ces méthodes au sein de stratégies de prise en charge efficaces. En effet, une technique diagnostique n'a de sens que si elle est intégrée dans une stratégie globale de prise en charge diagnostique et thérapeutique des infections communautaires et nosocomiales, et la collaboration entre cliniciens et microbiologistes est un élément essentiel pour traiter rapidement et de façon appropriée les patients infectés, contrôler l'utilisation des antibiotiques et éviter l'émergence et le développement des résistances.

La sélection des critères permettant d'évaluer et de valider une méthode de diagnostic microbiologique est rendue difficile en pneumologie par :

- L'absence d'une technique de référence (*gold standard*) indiscutable,
- L'existence d'une flore commensale dans les voies aériennes proximales
- Et la présence fréquente d'une antibiothérapie préalable.

En effet, le seul aspect histologique du poumon comme *gold standard* du diagnostic de pneumonie est discuté dans le domaine des pneumopathies nosocomiales ou impossible à définir dans le domaine des pneumonies aiguës communautaires prises en charge en ambulatoire. [1-2-3-4]

La réalisation des prélèvements microbiologiques avant toute antibiothérapie et les cultures quantitatives de ces prélèvements permettent d'améliorer la qualité de l'analyse bactériologique et de s'affranchir, du moins en partie, du problème de la contamination par la flore commensale. [5-6-7]

Cette étude vise principalement à :

- Identifier la ou les bactéries en cause et les différencier des bactéries commensales dans les différents prélèvements pulmonaires à l'exception des mycobactéries ;
- Étudier les profils de sensibilité des principales bactéries isolées aux antibiotiques testés ;
- Rationaliser l'utilisation des antibiotiques en milieu hospitalier.



Première partie

I. LES INFECTIONS RESPIRATOIRES BASSES:

I-1 Rappel anatomique :

L'Homme possède deux poumons, gauche et droit, deux organes thoraciques, séparés l'un de l'autre médialement par le médiastin. Ils sont posés sur le diaphragme et protégés par la cage thoracique en avant, en dehors et en arrière, sauf au niveau de leur sommet, car ils dépassent le bord supérieur de la première côte et montent même jusqu'au dessus de la clavicule, à la base du cou, dans le creux supraclaviculaire.

Le poumon droit est divisé en trois lobes (supérieur, moyen et inférieur), le gauche divisé en deux lobes (supérieur et inférieur). À gauche, la partie linguale du lobe supérieur correspond au lobe moyen droit, tandis que la partie culminale (culmen) correspond au lobe supérieur droit. Les lobes sont séparés par des scissures, deux à droite (une grande oblique, et une petite horizontale) et une à gauche oblique.

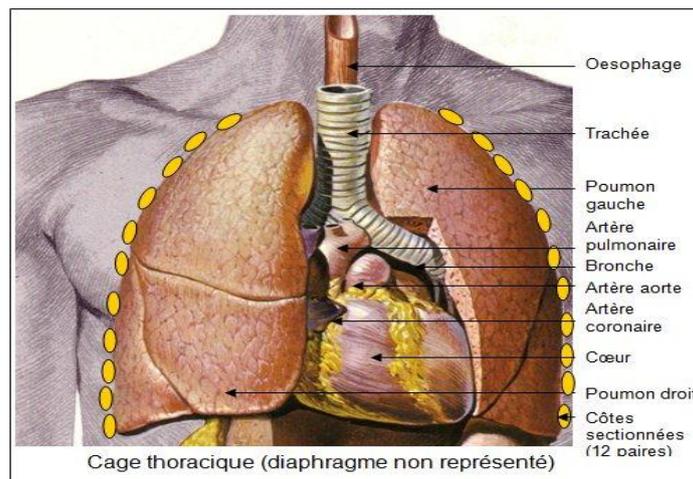


Figure1 : Anatomie du poumon

La vascularisation pulmonaire artérielle est double : le système pulmonaire et bronchique. Les artères pulmonaires apportent le sang veineux du ventricule droit pour l'oxygénation, leurs parcours suivent les bronches. Les artères bronchiques proviennent de l'aorte ou des artères intercostales et apportent le sang oxygéné à la paroi bronchique au niveau des bronchioles terminales.

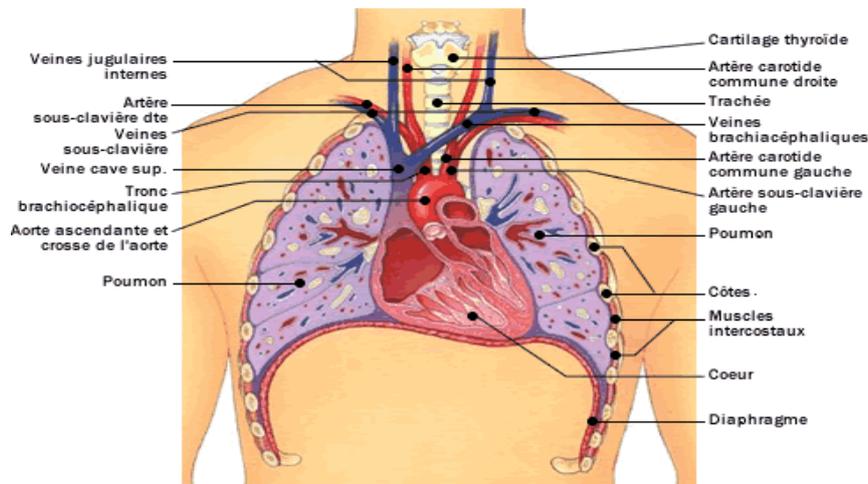


Figure2 : Vascolarisation du poumon

Les poumons sont reliés aux côtes de la cage thoracique par deux membranes appelées plèvres. L'inspiration et l'expiration sont sous le contrôle des muscles intercostaux et du diaphragme qui déforment la cage thoracique et donc les poumons via le jeu des plèvres.

I-2 Définitions :

Tous les jours, des microbes, virus ou agents infectieux entrent dans notre système respiratoire. Heureusement, notre système de défense nous permet de les combattre efficacement. Par contre, il peut arriver que, pour certaines raisons, entre autres le tabac, la pollution et des agents toxiques, nous développons des infections

Les infections respiratoires basses (IRB) regroupent les bronchites aiguës très fréquentes et les pneumonies plus rares. Les médecins généralistes assurent leur prise en charge dans 96 à 98% des cas. Les signes évocateurs d'IRB sont une association de :

- Toux souvent productive
- Au moins un signe fonctionnel ou physique d'atteinte respiratoire basse : dyspnée, douleur thoracique, sifflement, signes auscultatoires récents diffus ou en foyer.
- Au moins un signe général suggestif d'infection : Fièvre, sueurs, céphalées, arthralgies, mal de gorge, rhinorrhée. [32-33-34].

Selon l'endroit où l'infection se loge, on utilisera des termes bien précis: Au niveau des bronches, si la bronche primitive, les grosses ou petites bronches sont malades, on utilisera le terme bronchite. Dans le cas des minuscules bronchioles, on emploiera plutôt le terme bronchiolite. On parlera de broncho-pneumonie dans le cas où les alvéoles et les bronches d'un lobe sont atteints. Pour les alvéoles et les bronchioles, on parle alors d'une bronchio-alvéolite. La pleurésie, quant à elle, est une infection qui atteint la plèvre, et si on se trouve en présence d'une zone précise infectée dans laquelle se trouve un abcès, on parle alors d'abcès du poumon.

I-3 Types :

Les infections respiratoires sont très fréquentes: on dénombre 2 millions de cas par an aux USA.

Il existe au moins une centaine de micro-organismes pouvant causer des types différents de pneumonie, laquelle peut aller de bénigne à grave. Les agents étiologiques les plus fréquents sont par ordre décroissant: les virus essentiellement, les bactéries et les champignons.

- **les virus** - ils sont souvent la cause de la pneumonie chez l'enfant
- **les bactéries** - le type le plus courant; elles sont éradiquées par les antibiotiques
- **les mycoplasmes** - ces micro-organismes causent des infections moins graves
- **les organismes opportunistes** - une menace pour les personnes dont le système immunitaire est affaibli (p. ex. : la pneumonie à *Pneumocystis carinii* chez les personnes atteintes du SIDA)

Chaque année, en Amérique du Nord, environ 15 personnes sur 1 000 sont atteintes d'une pneumonie virale, chez les personnes en bonne santé âgées de moins de 65 ans, cette pneumonie entraîne rarement des complications graves. La pneumonie bactérienne frappe sans égard à l'âge. Les personnes atteintes de maladies pulmonaires chroniques ou dont le système immunitaire est affaibli courent généralement un risque plus élevé de pneumonie. [8]

I-4 Classification :

I-4-1 Les infections bronchiques :

I-4-1-1 Aigues : Elles sont le plus souvent virale, exceptionnellement bactérienne ; il s'agit de la coqueluche due à *Bordetella pertussis*.

I-4-1-2 Chroniques : Elles sont favorisées par des lésions anatomiques, des facteurs externes comme le tabac ou la pollution atmosphérique, se manifestent notamment sous la forme de bronchites à répétition. Elles sont dues au *Streptococcus pneumoniae* ou *Pneumocoque*, *Haemophilus influenzae*, *Branhamella catarrhalis*, *Neisseria*, *Moraxella*.

I-4-2 Les infections pulmonaires :

I-4-2-1 Primaires : Dues à des bactéries très pathogènes introduites par inhalation comme: le *Pneumocoque*, *Legionella*, *Mycoplasma pneumoniae* et les *Chlamydiae* toutes responsables des pneumopathies atypiques.

I-4-2-2 Secondaires : Elles sont favorisées par une obstruction sur l'arbre bronchique (cancer, respirateur) ; les bactéries opportunistes, comme le bacille pyocyanique (*Pseudomonas aeruginosa*) sont très fréquentes en milieu hospitalier et responsables de pneumopathies nosocomiales. Elles peuvent être d'origine hématogène comme pour le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*). [9]

I-4-2-3 La tuberculose :

Le plus souvent est de diagnostic atypique basé sur une symptomatologie associant asthénie, anorexie, amaigrissement, sueur nocturne et fièvre vespérale

II. LES PRELEVEMENTS PULMONAIRES: DEFINITION ET TECHNIQUES.

La difficulté du diagnostic des infections broncho-pulmonaires bactériennes est liée au problème de l'obtention de prélèvements des voies aériennes inférieures non contaminés par la flore oropharyngée. Cette dernière peut masquer les microorganismes responsables d'une infection.

De plus, les principales espèces bactériennes (*H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *S. aureus*) responsables des pneumopathies communautaires, voire nosocomiales précoces (J3-J5), peuvent être présentes à l'état commensal dans l'oropharynx.

C'est pourquoi une attention extrême doit être portée aux conditions de recueil de ces prélèvements. Il faut éviter la présence de salive qui risque de diluer le prélèvement et de le contaminer par des bactéries commensales salivaires (*staphylocoques* à coagulase négative, *streptocoques* autres que *S. pneumoniae*, bactéries corynéformes, *Neisseria* commensales).

Pour remédier à cet écueil important, plusieurs mesures sont préconisées :

- Eliminer les prélèvements dont l'examen microscopique montre une contamination salivaire évidente (présence de cellules épithéliales d'origine buccale, absence de macrophages alvéolaires et/ou de cellules bronchiques) ;
- Procéder à une analyse quantitative de la flore bactérienne ;
- Recueillir les sécrétions broncho-pulmonaires des malades ayant une pneumopathie grave au moyen de méthodes invasives mais plus fiables : brossage bronchique protégé et lavage broncho alvéolaire.

Pour éviter la pullulation des bactéries commensales aux dépens de bactéries fragiles comme *S. pneumoniae*, le prélèvement doit être acheminé rapidement au laboratoire.

Les antibiotiques modifiant les flores, il est fondamental de recueillir les sécrétions broncho-pulmonaires avant le début du traitement antibiotique, si cela est possible. [10]

II-1 Crachat et expectorations :

L'examen cyto bactériologique d'un crachat (ECBC) peut aider à faire un diagnostic microbiologique d'infection respiratoire basse en isolant les bactéries responsables, en les identifiant, et en déterminant leur sensibilité aux anti-infectieux.

Ce diagnostic microbiologique est délicat à établir pour de nombreuses raisons :

- Contamination systématique du prélèvement par la salive et la flore aéro digestive,
- Certaines espèces bactériennes responsables d'infections pulmonaires sont présentes à l'état commensal dans l'oropharynx et la salive (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*,...),
- Certaines espèces bactériennes ne sont pas cultivables sur les milieux de cultures usuels (*Legionella*, *Chlamydia*, *mycoplasmes*, *mycobactéries*...).

Pour toutes ces raisons, on rappelle que le diagnostic microbiologique d'infection respiratoire basse doit être préférentiellement basé sur d'autres prélèvements.

II-1-1 Indications :

Les principales indications de l'ECBC sont :

- Le diagnostic d'une tuberculose pulmonaire (dans ce cas, bien le préciser sur la fiche de demande),
- Le diagnostic d'une pneumopathie à germe atypique (*Legionella*, *Chlamydia*, *Coxiella*, *Mycoplasma*). (Dans ce cas, bien le préciser sur la fiche de demande).
- L'aide au diagnostic d'une pneumopathie à germes classiques, quand il n'est pas possible d'obtenir des prélèvements protégés.

En dehors de ces indications, cet examen est à proscrire car il est inutile et peut être trompeur.

II-1-2 Techniques :

Ce prélèvement nécessite une technique de recueil irréprochable pour que la contamination soit limitée et que le résultat soit interprétable.

- Expliquer au patient l'importance des consignes suivantes.
- Faire pratiquer un lavage des dents et un rinçage abondant de la bouche (en cas de besoin, effectuer un soin de bouche).
- Prélever les expectorations obtenues après des efforts de toux. Le prélèvement est de meilleure qualité lorsqu'il est réalisé après kinésithérapie.
- Recueillir des expectorations dans un flacon stérile.

II-1-3 Envoi au laboratoire :

- Identifier le prélèvement et le placer dans un sac en plastique.
- Remplir la fiche de demande d'examen en précisant l'orientation clinique de la demande et les germes spécifiques à rechercher (BK, légionelles, etc...).
- A fin d'éviter la pullulation des bactéries commensales aux dépend des bactéries fragiles, le prélèvement doit parvenir au laboratoire dans moins de 30 minutes.
- Ne jamais conserver ce prélèvement au froid. [11]

II-2 Aspiration bronchique :

Les aspirations bronchiques sont indiquées devant la difficulté d'expectoration et quand la flore commensale est trop riche. [12]

II-2-1 Techniques et méthodes :

Ce prélèvement est réalisé de la manière suivante :

-Introduire Horizontalement la sonde par le nez, en choisissant la narine la plus perméable :

Jusqu'à la butée des fosses nasales, puis donner une légère poussée pour boucler un peu la sonde vers le haut et lui permettre de descendre dans le pharynx.

-Descendre la sonde jusqu'au carrefour pharyngé : la toux du patient témoigne du franchissement de la trachée par la sonde. Prêter attention à ce que le patient n'avale pas sa salive, sinon réaliser une aspiration gastrique, et il faut à ce moment-là renouveler la manœuvre avec une nouvelle sonde d'aspiration.

- Introduire les 2/3 seulement de la longueur de la sonde.
- Décondamner le stop-vide pour aspirer ou brancher la sonde :
- Remontez attentivement la sonde en aspirant tout en évitant l'aspiration dans le nez, à cause de la fragilité des muqueuses, en revanche, ne pas oublier d'aspirer aussi dans la bouche
- Rincer la sonde dans le flacon de sérum physiologique stérile ou eau stérile.
- JETER LA SONDE A CHAQUE GESTE (une fois sortie du nez).
- Recommencer jusqu'à libération complète des voies respiratoires en respectant des temps de pause pour que le patient retrouve son souffle.
- Si vous disposez d'un adaptateur de stop-vide, sinon, introduisez la dernière sonde pour le faire
- Ne pas oublier d'aspirer aussi dans la bouche
- Jeter au fur et à mesure le matériel à usage unique utilisé et bien rincer le système d'aspiration avec le sérum physiologique stérile
- Réinstaller le patient confortablement
- Ranger au mieux le matériel propre dans la chambre, nettoyer et décontaminer les surfaces utilisées
- SE LAVER LES MAINS APRES LE SOIN [13].

II-3 Lavage broncho alvéolaire :

Le lavage broncho alvéolaire est essentiellement indiqué pour analyser la cytologie locale chez les sujets suspects d'être néoplasique,

II-3-1 Modalités de l'opération :

Il consistant à injecter dans les bronches et les alvéoles pulmonaires sous fibroscopie une solution (50 à 250 ml) de liquide physiologique stérile à 37°C, ou un agent mucolytique. Ce liquide est ensuite récupéré ce qui permet d'effectuer certains examens à la recherche d'infections ou d'autres pathologies.

En cas de suspicion d'agents pathogènes dangereux déterminés par le clinicien (ex : Grippe aviaire, SRAS, maladie nosocomiale..), le praticien doit être particulièrement bien protégé des gouttelettes susceptibles d'être émises (toux, éternuement..). De manière générale, il doit aussi veiller à ne pas contaminer son prélèvement par des microbes présents dans la bouche, le nez ou la salive du patient.

C'est un mode d'investigation qui complète la radiographie de l'arbre pulmonaire.

Un échantillon de tissu bronchique (biopsie), peut être prélevé par une petite pince introduite dans le canal du fibroscope.

II-3-2 Analyse :

Au niveau du laboratoire de microbiologie, une étude cytologique est essentiellement effectuée à la recherche d'une réaction inflammatoire néoplasique ou hémorragique intra-alvéolaire, par la suite une culture est réalisée sur différents milieux afin de révéler d'éventuelles bactéries pathogènes.

Dans de nombreux cas, le LBA constitue l'outil diagnostique essentiel ayant détrôné la biopsie pulmonaire chirurgicale, tout particulièrement dans le diagnostic des infections opportunistes. Enfin, le LBA demeure à l'heure actuelle un élément majeur dans l'étude des mécanismes physiopathologiques des affections du poumon distal. [14]

II-4 Prélèvement distal protégé :

Les prélèvements cités précédemment restent tous à la merci de la contamination par la flore commensale du tractus oto-rhino-laryngologique, seul le prélèvement distal protégé reste la méthode de prélèvement la plus privilégiée pour éviter cette contamination.

II-4-1 Définition :

- Le PDP consiste à réaliser un prélèvement des sécrétions pulmonaires « profondes » à visée diagnostique. Cet examen s'effectue sans support fibroscopique (technique dite à l'aveugle)
- Le PDP est un acte infirmier exécuté sur prescription médicale d'après le décret 2004-802 du 29/07/04 relatif aux parties IV et V du code de la santé publique, relatif aux actes professionnels et à l'exercice de la profession d'infirmière. [15]
- En 1996/1997 : Première recherche au PDP au Maroc au laboratoire bactériologie-sérologie d'Ibn sina à Rabat.

II-4-2 Techniques :

- ✧ Cette méthode utilise un double cathéter stérile obturé à son extrémité distale par un bouchon de PEG (poly éthylène glycol). Ce double cathéter est introduit à l'aveugle (la performance diagnostique de cet examen n'est pas améliorée lorsqu'il est réalisé sous fibroscopie) jusqu'à butée, puis le bouchon de PEG est expulsé par la poussée du cathéter interne qui va permettre de prélever les sécrétions bronchiques par trois brèves aspirations réalisées à l'aide d'une seringue de 10 ml [16].
- ✧ Le cathéter interne est ensuite repositionné dans le cathéter externe et le tout est retiré. L'extrémité distale du cathéter externe est essuyée avec une compresse stérile et sectionnée avec des ciseaux stériles, puis le cathéter interne est avancé et 1 ml de sérum salé pour recueillir les sécrétions dans un flacon stérile.
- ✧ Enfin, l'extrémité distale du cathéter interne est aussi sectionnée de façon stérile et recueillie dans le même pot que les sécrétions, et l'ensemble est adressé au laboratoire pour l'examen direct et les cultures semi-quantitatives ou quantitatives. La réalisation d'un mini-LBA (20 ml) est aussi possible avec ce dispositif [17-18-19-20].

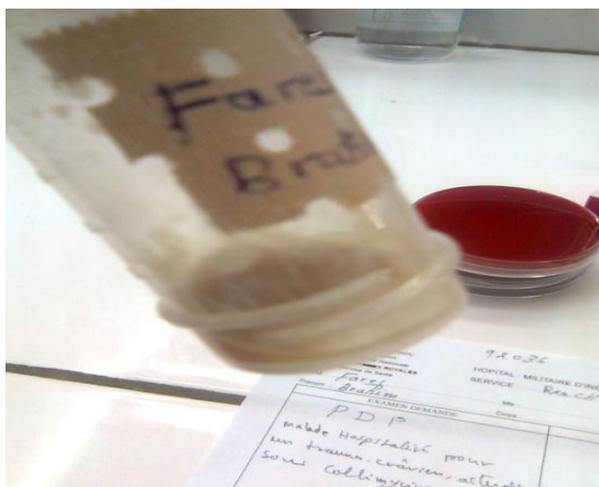


Figure3: Prélèvement distale protégé, Lab. microbiologie HMIMV-RABAT

II-4-3Avantages:

- Technique facile à réaliser
- Faible coût
- Pas de pneumothorax, ni d'hémorragie
- Intérêt pour des patients très hypoxémiques qui supporteraient mal un acte endoscopique. [21]

III. TECHNIQUES DE TRAITEMENT DE PRELEVEMENTS AU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

III-1 Généralités

Le diagnostic bactériologique est un ensemble de moyens permettant de confirmer telle ou telle étiologie infectieuse d'origine bactérienne. Ces moyens diagnostiques sont variés et caractérisent soit le diagnostic direct soit celui indirect :

DIAGNOSTIC DIRECT : C'est la mise en évidence de la bactérie elle-même, par sa culture ou l'isolement qui permettra l'identification ultérieure et la précision sa sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).

DIAGNOSTIC INDIRECT : C'est la mise en évidence de la réponse de l'organisme à l'infection par la présence d'anticorps spécifiques, le plus souvent sériques ou plus rarement par une réponse d'hypersensibilité, dite allergique.

III-2 Diagnostic direct

La prescription s'intitulera "**examen cyto bactériologique**", d'une expectoration (ECBC), d'un liquide pleural ou d'un PDP... ayant pour objectif la recherche de la bactérie responsable de l'infection.

III-2-1 Demande

Il sera important de bien identifier le patient par son nom, son prénom, sa date de naissance ainsi d'informer le biologiste de la pathologie en question (renseignements cliniques).

Le clinicien ne devra jamais oublier d'indiquer toute demande ou recherche particulière, en raison de l'utilisation de milieux spéciaux.

III-2-2 Examen macroscopique



Toute infection bactérienne s'accompagne, outre la présence de bactéries, de signes biologiques liés à l'inflammation avec l'éventuelle présence de leucocytes, notamment de polynucléaires. Ces éléments peuvent entraîner au delà d'un seuil, une modification visuelle, clairement perceptible à l'œil nu, qui signe une anomalie patente. Divers éléments sont alors obtenus comme le montrent les exemples suivants:

- **Trouble** : liquide pleural, aspiration bronchique, LBA....
- **Hémolytique ou Autre coloration anormale**
- **Odeur et Consistance** : Est caractéristique lors d'infections à germes anaérobies stricts dans le liquide pleural



Figure 4: Différents aspects des prélèvements

III-2-3 Examen microscopique

L'examen microscopique a un intérêt diagnostique au delà d'un certain seuil... Donc souvent, on ne note aucune anomalie macroscopique ou visible, d'où la nécessité de rechercher des bactéries et des éléments cellulaires de type polynucléaire au **microscope optique**.

III-2-3-1 État frais (Grossissement de 400, en général):

Une préparation est obtenue avec le dépôt d'une goutte du prélèvement entre lame et lamelle, puis on observe au microscope la **présence éventuelle de bactéries** (coque, diplocoque, chaînette, coccobacille, bacille...), et le type de mobilité ;

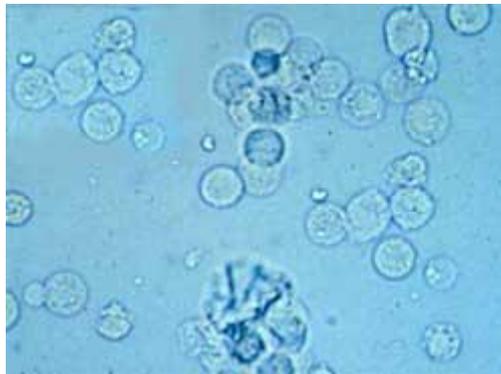


Figure5 : État frais entre lame et lamelle

Par ailleurs, lors de cette observation, seront évaluées les **cellules** avec une appréciation **semi-quantitative** (rares, peu nombreux, nombreux, très nombreux...) ou mieux **quantitative**, exprimée par nombre d'éléments / mm³ ou ml ou par champ.

Exemple d'une cellule de Malassez ou de nageotte pour les liquides de ponction.

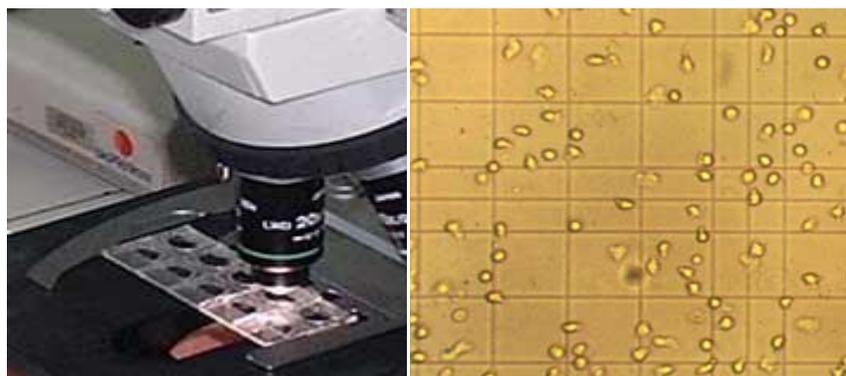


Figure6 : État frais dans une cellule de nageotte

III-2-3-2 Examen après colorations (Grossissement de 1000, en général):

Un frottis fin est obtenu à partir du produit pathologique, puis coloré permettant une **meilleure visualisation** des bactéries et/ou des éléments cellulaires

a/Coloration simple: Le frottis fin est traité par un seul colorant basique (bleu de méthylène). Cette technique est simple, rapide et peu onéreuse.

b/Coloration différentielle : Compte tenu des différences structurales de la paroi des bactéries, la coloration de Gram découverte par Hans GRAM en 1884 permet de distinguer les bactéries colorées en violet (G+) de celles en rose (G-).

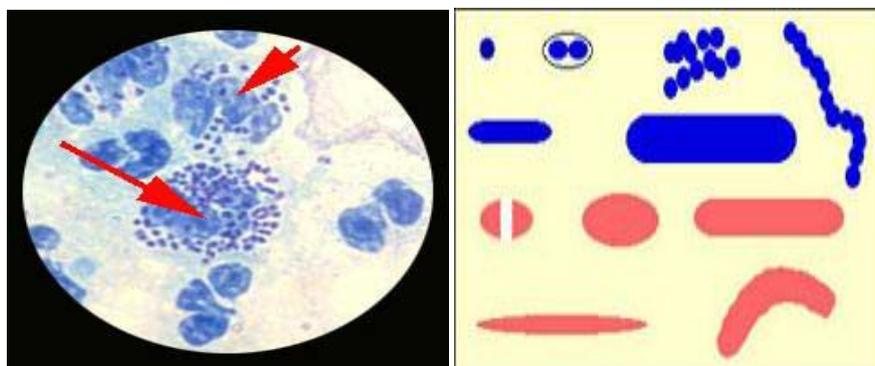
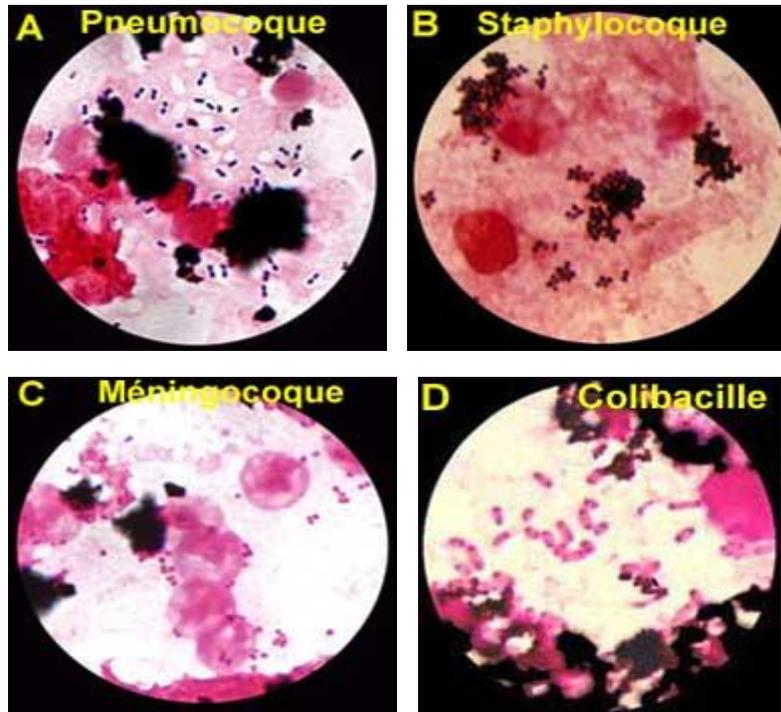


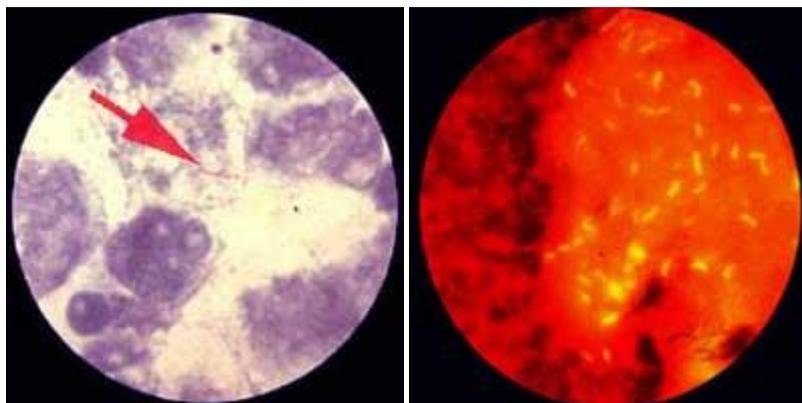
Figure7 : Couleurs et formes observées en coloration Gram

Il est alors possible en tenant compte de la réponse Gram+ ou Gram- et des morphologies observées d'évoquer un probable diagnostic

Exemples de probables diagnostics bactériologiques en fonction des commémoratifs: suspicion de pneumonie (A), de bronchopneumonie (B), de méningite (C), de pyélonéphrite (D).



III-2-3-3 Examen après coloration spéciale : Ziehl-Neelsen : Les bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) compte tenu de la composition de leur paroi ils sont détectés spécifiquement. Il s'agit du groupe des mycobactéries dont le bacille tuberculeux (Bacille de KOCH/BK) colorées en rouge sur un fonds bleu. Ce contraste de coloration permet une recherche plus facile sur un frottis. D'ailleurs, l'usage actuel d'un colorant fluorescent (auramine) assure une visualisation plus facile.



**Figure 8 : Coloration de Ziehl-Neelsen (a gauche)
et coloration fluorescente a l'auramine (a droite)**

III-2-3-4 Examen après coloration spéciale : MGG La coloration de May-Grunewald-Giemsa (MGG) est principalement à visée cytologique pour une meilleure individualisation des éléments cellulaires tels polynucléaires, macrophages, lymphocytes... Les bactéries peuvent être néanmoins observées avec leur capsule comme le *pneumocoque* (A). D'autres peuvent être spécialement recherchées telle *Borrelia burgdorferi* dans la maladie de Lyme (B).

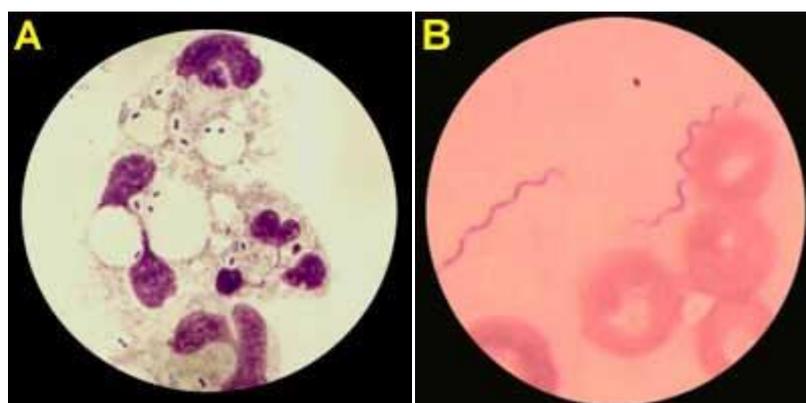


Figure 9 : Pneumocoque (A) et Borrelia burgdorferi(B) sous coloration MGG

III-2-3-5 Autres types de microscopie

a/Microscopie à fluorescence (source particulière ; lampe UV) :

- Cette microscopie est systématiquement utilisée après coloration des BAAR par l'auramine qui, fixée sur ces bactéries, donne une fluorescence sous la lampe UV.

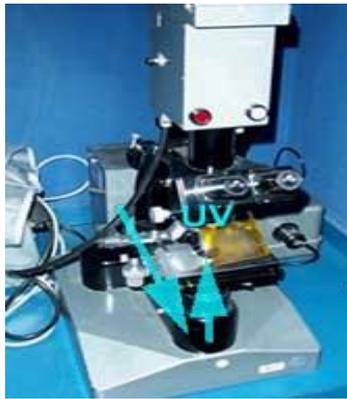


Figure 10 : Microscopie à fluorescence, rayons UV

- coloration par anticorps marqués par un conjugué fluorescent. Ce type de technique est maintenant d'usage plus limité (sensibilité insuffisante) comme celle de la recherche de *Legionella pneumophila* dans un prélèvement pulmonaire. La recherche de l'antigène urinaire est très supérieure en sensibilité.

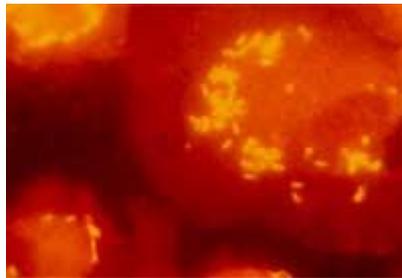


Figure 11 : Coloration par anticorps fluorescents

- #### b/Microscopie au fond noir (condenseur spécial) :
- Il s'agit de rechercher des bactéries sur lesquelles la lumière s'est réfléchi. Cette recherche est inhabituelle: diagnostic bactérioscopique de la syphilis (*Treponema pallidum*) sur un prélèvement de chancre (A).

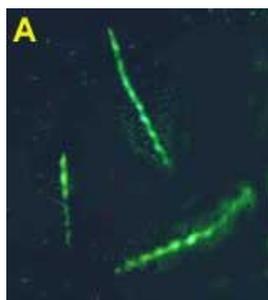


Figure 12 : Réflexion de la lumière par *Treponema pallidum* sur un fond noir

La recherche d'un microorganisme rare de type levure (*Cryptococcus neoformans*) est constante dans une suspicion de méningite chez le sidéen (B).

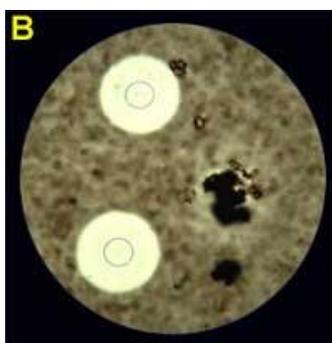


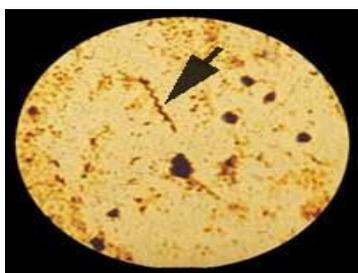
Figure 13 : *Cryptococcus neoformans*

c/Microscopie électronique : rarement utilisée en pratique, plus souvent dans le cadre de l'identification d'une nouvelle étiologie bactérienne (*Bartonella*, *Helicobacter*...).

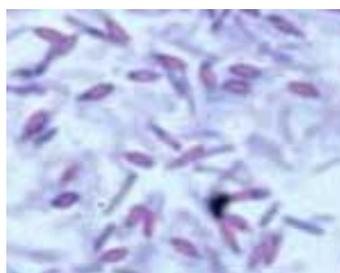


Figure 14: Individualisation d'un corps d'inclusion à *Chlamydia trachomatis*

III-2-3-6 Autres types de coloration: IL existe en bactériologie, diverses autres techniques de coloration qui ne présentent qu'un intérêt anecdotique. Cependant il convient de ne pas les méconnaître dans le cadre d'une nouvelle étiologie bactérienne comme la technique d'**imprégnation argentique** (intérêt historique) dans l'angiomatose bacillaire ou la maladie des griffes du chat. Les autres comme celle de visualisation de la capsule (**coloration de Moeller**) ou encore celle des cils ou flagelles (**coloration de Leifson**) sont quelquefois mises en œuvre dans le cadre de diagnostic d'une espèce.



Exemple d'imprégnation argentique pour la recherche de *Treponema pallidum* (spirochète)



Exemple de coloration de la spore (Moeller) d'une souche de *Clostridium*



Exemple de coloration flagellaire (Leifson) d'une souche de *Vibrio*

Figure 15:

III-2-3-7 Conclusions:

Les éléments récoltés de l'examen macroscopique et surtout microscopique fournissent souvent des arguments diagnostiques de très forte présomption qui vont permettre la mise en route d'une thérapeutique adaptée. La culture ou l'isolement de l'agent causal sera, cependant, essentielle, elle permettra l'identification ultérieure mais aussi la précision de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme). Le diagnostic indirect sera quelquefois le seul recours diagnostique possible dans quelques rares maladies comme la syphilis. [22]

III-2-4 Culture:

Divers milieux sont utilisés qui doivent satisfaire les besoins nutritifs et énergétiques des bactéries à cultiver. En pratique, sont utilisés plusieurs milieux solides (gélés) avec une technique particulière d'ensemencement (isolement orthogonal ou en cadran) permettant l'isolement de clones bactériens sous la forme de **colonies** (de l'ordre de 10^6 bactéries).



Figure 16 : Ensemencement orthogonal des milieux gélés dans des boîtes de pétri



Figure 17 : Exemples de milieux solides coulés en boîte de Pétri selon le produit pathologique et la demande

- **liquides de ponction** : milieux enrichis au sang (frais, cuit=chocolat), milieu sélectif (Chapman, ou sur demande: Loewenstein-Jensen)

- **Expectoration** : milieux enrichis au sang (frais, cuit), milieu sélectif (Chapman; Drigalski ou sur demande: Lowenstein-Jensen)



Figure 18 : Exemples de milieux liquides

L'usage de milieux liquides est limité en raison de l'absence possible d'isolement.

• **Sang, pus, liquides de ponction** : milieux enrichis (flacons pour hémoculture, coeur-cerveille, trypticase.....)

Après ensemencement, les divers milieux sont habituellement incubés dans une étuve ou une chambre chaude à 37°C, en atmosphère ambiante (culture aérobie) ou en l'absence d'oxygène (culture anaérobie en jarre de plastique, par exemple).

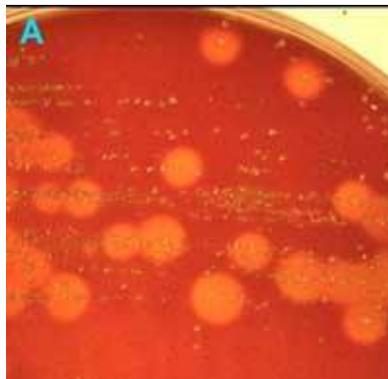


Figure 19 : Etuve de culture aérobie (à gauche) et jarre d'anaérobie (à droite)

Délai d'incubation : De très nombreuses espèces bactériennes cultivent après 18 à 24 H d'incubation à 37°C. Cependant d'autres espèces ont des délais d'incubation plus longs telles *Mycobacterium tuberculosis* (temps moyen d'isolement de l'ordre de 21 jours) Outre le délai d'obtention, les cultures sont examinées en notant la quantité de colonies obtenues de manière :

- **semi-quantitative** (rares, peu nombreuses, nombreuses, très nombreuses) pour les liquides de ponction, par exemple
- **quantitative** (10^4 , 10^5 , 10^6 /ml) pour les prélèvements pulmonaires.
- Les autres éléments pris en compte sont :
- la culture en aérobiose et/ou en anaérobiose
- l'aspect des colonies: la taille, la bordure (lisse, rugueuse), la coloration (pigment jaune pour *Staphylococcus aureus*, pigment violet pour *Serratia marcescens*)
- la présence d'une hémolyse (alpha, bêta).

Exemples d'isolement:



**Figure 20 : A/Prélèvement de gorge avec de nombreuses colonies β -hémolytiques
(gélose au sang frais)**



Figure 21 : B/Expectoration avec de nombreuses colonies soit alpha-hémolytiques et muqueuses évoquant un pneumocoque, soit petites et brillantes évoquant une souche de *Haemophilus influenzae* (gélose au sang cuit ou gélose chocolat)

III-2-5 Identification des germes par les galeries API:

Une galerie API est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés.

III-2-5-1 Historique:

La première galerie API apparue dans le monde de la microbiologie a été la galerie Api 20E, destinée à l'identification des entérobactéries. Les tests conventionnels d'identification bactérienne utilisés jusque là en tubes y sont miniaturisés, l'inoculum bactérien est standardisé. Étendu à l'identification d'autres micro-organismes, ce principe a généré tout une gamme de galeries :

- API® 20 NE ou API® 32 GN pour les bacilles à Gram négatif oxydase positif ;
- API® Staph pour les *Staphylocoques* ;
- API® Listeria pour les *Listeria* ;
- API® Candida pour les levures ;
- API® NH pour les *Neisseria et Haemophilus* ;

- API® 20 A pour les anaérobies ;
- API® Strep pour les *Streptococcus* ;
- etc.

Créée en 1970 par le docteur Bussière, le pharmacien Cinquabre, Paul & Pierre Montagnon et Henri Labruyère, la société API® a par la suite été rachetée par la société Biomérieux.

III-2-5-2 Principe de l'identification par les galeries API®:

Les galeries Api utilisent plusieurs types de tests : étude de la fermentation de divers glucides, auxanogramme*, recherche directe d'une enzyme. Chaque tubule contient un substrat différent sur lequel le micro-organisme considéré va réagir. Ils sont remplis d'une suspension bactérienne calibrée (de densité différente selon la galerie). Pour les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit être remplie de manière à créer un ménisque. Pour les substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de paraffine soit pour créer l'anaérobiose (absence d'oxygène), soit pour maintenir en solution les ions volatils produits par la réaction et ainsi assurer le virage de l'indicateur coloré de pH.

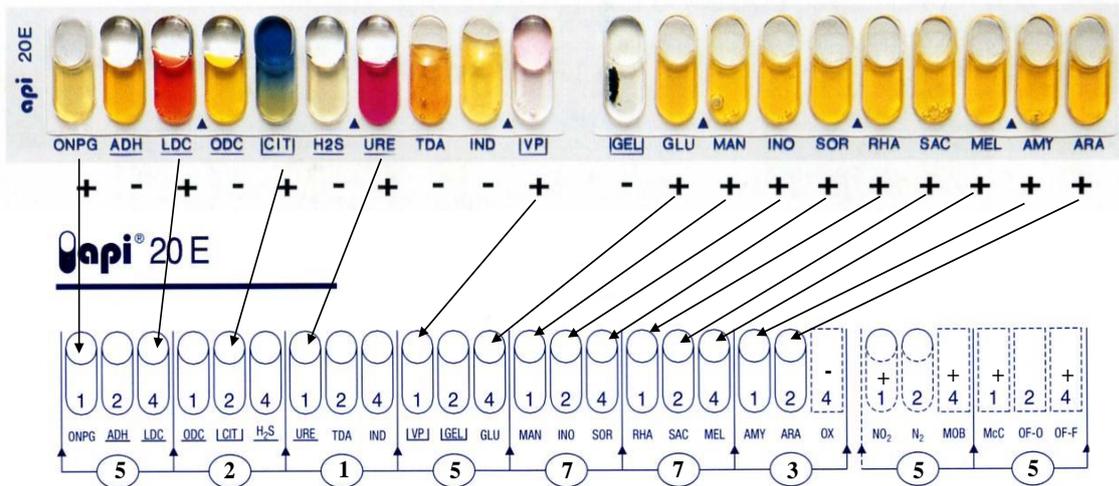
Les creux du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, puis la galerie est posée dans le support et le couvercle par dessus. L'ensemble est incubé à une température adaptée pendant 24 à 48h.



Figure 22 : Identification d'Escherichia coli et Proteus mirabilis par un ensemble de réactions du métabolisme intermédiaire avec la galerie commerciale API20E

Après addition des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests, la galerie est lue et codée conformément aux indications du fabricant. Pour cela, les tests sont groupés par trois successivement de gauche à droite, les derniers triplets pouvant inclure des caractères bactériens comme la morphologie, le Gram, la mobilité, l'oxydase, la catalase, etc. qui ne sont étudiés dans la galerie mais qui sont indispensables à son interprétation. Les tests négatifs sont toujours codés 0 alors que le code affecté aux tests positifs varie selon la position du test dans le triplet : 1 pour le premier test, 2 pour le second, 4 pour le troisième. Les 3 résultats du triplet sont additionnés (il existe seulement huit possibilités pour la somme d'un triplet : 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Les sommes de chaque triplet lues de gauche à droite forment un code d'au moins 7 chiffres qui correspond au profil biochimique du micro-organisme étudié. La comparaison de ce code à ceux référencés dans la base de données gérée par Biomérieux permet en général d'identifier ce micro-organisme. Si le code numérique obtenu ne figure pas dans cette base de données, il peut s'agir d'un profil ou d'un micro-organisme non référencé, mais la cause la plus fréquente reste un problème technique (inoculum non respecté, paraffine oubliée, réactifs périmés, etc.).

Résultats de la galerie:



Résultats reportés sur la fiche d'identification

Code n°: 5 215 773 (55)	Ident.
-------------------------	--------

Se référer au catalogue pour identifier la souche à l'aide du code

Figure 23: Identification des germes à partir des codes rapportés sur la fiche d'identification

**Auxanogramme : Ce milieu de culture est entièrement synthétique, sa composition est exactement connue. Il ne contient pas de glucides. Il permet la détermination de l'auxanogramme du carbone. C'est-à-dire d'étudier le comportement (se traduisant par une culture ou non) de micro-organismes (bactéries, levures) vis-à-vis des glucides étudiés. Il contient des éléments essentiels comme des acides aminés, des vitamines et des sources d'ions minéraux ce qui permet d'étudier un seul facteur limitant : le glucide étudié.) [23-24-25-26]*

III-2-6 Antibiogramme:

III-2-6-1 Définition et principe:

L'antibiogramme est l'une des principales finalités de l'examen bactériologique. Il permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne in vitro.

C'est un examen routinier de laboratoire ; il est simple, sophistiquée et demande un certain savoir faire de base de la part du technicien. Cependant, l'antibiogramme peut être entaché d'erreur, si l'on ne respecte pas les conditions requises de stérilité.

Il existe deux types de techniques autorisées par l'OMS : la méthode par dilution et la méthode par diffusion. Celle utilisée en laboratoire est la méthode par diffusion. En effet, encore appelé antibiogramme standard, il est simple à réaliser et très efficace.

III-2-6-2 Méthode de réalisation :

Il se déroule en 3 étapes :

- Préparation de l'inoculum : Elle exige une culture pure. En effet, une souche hétérogène donnera évidemment de faux résultats.

On prélève une colonie pure à l'aide d'une anse stérilisée au bec benzène, que l'on dilue dans 3 ml d'eau distillée stérile contenue dans un tube stérile. On mélange très bien la solution afin de bien l'homogénéiser.

- Ensemencement de l'inoculum : Sur un milieu nutritif spécifique à la réalisation des antibiogrammes, Mueller-Hinton (MH) On coule l'inoculum, on répand de manière homogène la solution et on élimine le surplus dans un récipient destiné à cet usage.

- Disposition des disques d'antibiogramme : A l'aide d'une paire pince stérile ou du distributeur, on dépose délicatement les disques sur le milieu ensemencé. On appuie délicatement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu, cette manœuvre exige une manipulation avec soin sans oublier de stériliser la pince à chaque prise d'un nouveau disque d'antibiotique.

➤ Principales Causes D'erreurs D'un Antibiogramme

Elles sont diverses et varient selon la manière de manipuler le matériel :

- ✧ Inoculum hétérogène ou dilué dans de l'eau distillée contaminée ;
- ✧ Milieu de culture contaminé ou trop conservé au réfrigérateur ;
- ✧ Disques d'antibiotiques mal conservés ou non stériles ;
- ✧ Erreurs de lecture et d'interprétation, souvent courants ;

III-2-6-3 Types d'antibiotiques utilisés selon les groupes de bactéries:

Les antibiogrammes diffèrent pour chaque bactérie. Sachant que certaines bactéries sont naturellement résistantes à certains antibiotiques, le choix des antibiotiques doit être contrôlé par le biologiste.

Notons que pour l'interprétation des résultats, on se réfère au CA-SFM (comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie). [25-26]

1 ANTIBIOGRAMME DES ENTEROCOQUES, PNEUMOCOQUES ET AUTRES STREPTOCOQUES

L'antibiogramme de ces bactéries se réalise sur un milieu Mueller-Hinton additionné à 5% de sang de mouton ou sur gélose au sang. Cependant, à défaut, on utilise simplement le milieu de Mueller-Hinton.

Les entérocoques et les streptocoques sont naturellement résistants aux aminoglycosides de bas niveau. Toutefois pour l'identification de chaque espèce, il existe d'autres résistances. Par exemple, le genre *Enterococcus* est résistant en plus à l'Oxacilline.

Voici les antibiotiques à tester :

Kanamycine (K)	Pénicilline G (P) PENITAR®
Amoxicilline (AMX) AMOXIL®	Gentamicine 500 (CN) GENTALINE®
<u>CIPROFLOXACINE</u> (CIP) SEPSEN®	Chloramphénicol (C)
Vancomycine (VAN)	Oxacilline (OX)
Teicoplanine (TEC)	Ceftriaxone (CTX)

Erythromycine (E) ERY®	Tétracycline (TE) TETRACYCLINE®
Lincomycine (MY)	Fosfomycine (FOS)
Furanes (F)	Sulfametoazole-Trimetoprime (SXT) BACTRIM®

② ANTIBIOGRAMME DES STAPHYLOCOQUES

Les Staphylocoques sont naturellement résistants à la Colistine, l'Aztréonam et aux quinolones.

Néanmoins, la disposition des disques est très importante. Voici les antibiotiques à tester :

Acide fusidique (FD) FUCIDINE®	Vancomycine (VAN)
Oxacilline (OX)	Kanamycine (K)
Cefoxitine (FOX)	Novobiocine (NV).
Amoxicilline (AMX)	Pristinamycine (PT)
Erythromycine (E)	Lincomycine (MY)
Furanes (F)	Tobramycine (TOB)
Gentamicine (CN)	Rifampicine (RD)
Sulfametoazole-Trimetoprime (SXT)	Tétracycline (TE)
Ofloxacine (OFX) OFLOCET®	Teicoplanine (TEC)

La disposition des disques d'aminosides, macrolides, lincosamines et streptogramines est spécifique pour déterminer le phénotype des souches isolées (surtout dans le cadre épidémiologique).

③ ANTIBIOGRAMME DES NON FERMENTAIRES (GENRE ACINETOBACTER ET PSEUDOMONAS)

Les non fermentaires sont des bactéries GRAM négatif. Encore appelés Bacilles Multirésistants (BMR), ils sont sujets à plusieurs résistances naturelles. Ce sont des germes responsables d'infections nosocomiales. C'est pourquoi, leur apparitions dans un service de l'hôpital est un signe de malpropreté du matériel chirurgicaux-médicale de ce service. Les disques à testés sont :

Ciprofloxacine (CIP)	CIFLOXINE® Amikacine (AK)
Gentamicine (GN)	Fosfomycine (FOS)
Netilmicine (NET)	Ticarcilline-Acide Clavulanique (AMC)
Aztréoname (ATM)	Ceftazidime (CAZ)
Pipéracilline-Tazobactam (TZP)	Pipéracilline (PRL)
Ceftriaxone (CRO)	Cefsulodine (CFS)
Rifampicine (RD)	Imipénème (IMP)
Ticarcilline (TIC)	Tobramycine (TOB)

④ ANTIBIOGRAMME DES ENTEROBACTERIES

Les entérobactéries constituent une vaste famille de bactéries qui représente près des 2/3 des isollements d'un laboratoire de bactériologie médicale. Selon leurs résistances naturelles aux bêtalactamines, on les classe en 4 groupes :

Groupe 1 : Escherichia coli, Salmonella, Shigella, Proteus mirabilis.

Groupe 2 : K. pneumoniae, Citrobacter diversus.

Groupe 3 : Enterobacter, Serratia, Providencia, Citrobacter ferrundi.

Groupe 4 : Yersinia enterocolitica

Les antibiotiques à tester sont :

Amoxicilline (AMX)	Aztréonam (ATM)
Cefalotine (KF)	Colistine (CT)
Tobramycine (TOB) TOBREX®	Gentamicine (GN)
Netilmicine (NET)	Pipéracilline (PRL)
Cefotaxime (CTX)	Cefoxitine (FOX)
Ceftazidime (CAZ)	Ceftriaxone (CRO)
Amikacine (AK)	Ciprofloxacine (CIP)
Ticarcilline (TIC).	

Du fait de leur fréquence, il serait intéressant de connaître les différents types de phénotypes rencontrés. Ces phénotypes sont déterminés en se basent sur 6 groupes d'antibiotiques.

**Tableau 1 : Phénotype de résistance des entérobactéries aux bêtalactamines,
*Bacteriofiches de J-L FAUCHERE, éd. ellipse 1997.***

	Sauvage	PBN	PHN	TRI	CBN	CHN	BLSE
Aminopenicilline (AMX/AMP)	S	R	R	R	R	R	R
Carboxy/Ureido (TIC /PRL)	S	R	R	R	S	R	R
AMC	S	S	I/R	R	I/R	R	R
C1G	S	S	R	S	R	R	R
C3G	S	S	S	S	S	R	R
Cefoxitine (FOX)	-----					R	S

⇒NB : AMX : Amoxicilline ; AMP : Ampicilline ; TIC : Ticarcilline ; PRL : Pipéracilline ; AMC : Amoxicilline+Acide clavulanique ; C1G : Céphalosporines de 1^{ère} génération ; C3G : Céphalosporines de 3^{ème} génération ; PBN : Pénicilline Bas Niveau ; PHN : Pénicilline Haut Niveau ; TRI : Pénicilline Résistante aux inhibiteurs ; CBN : Céphalosporine Bas Niveau ; CHN : Céphalosporine Haut Niveau ; BLSE : Bêtalactamase à spectre étendu.

III-2-6-4 Lecture et interprétation:

Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme et leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque.

Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de pousse bactérienne.

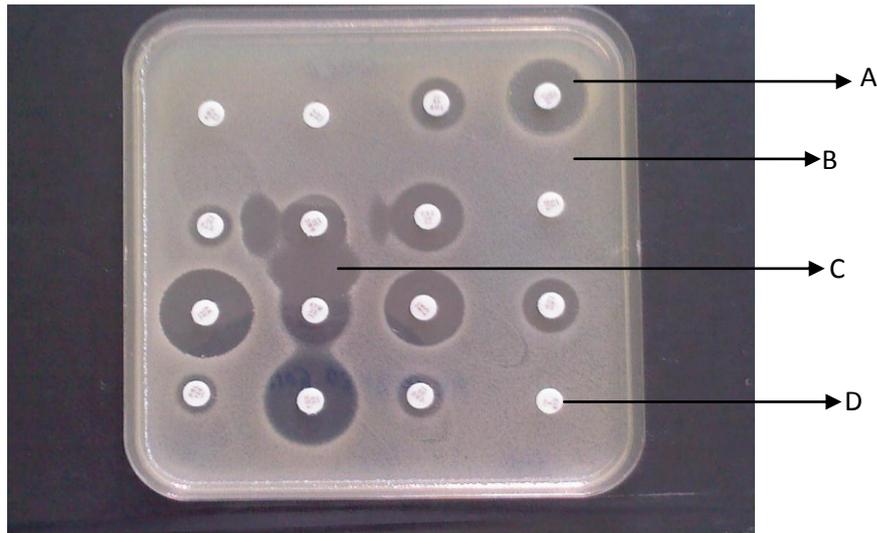


Figure 24 : Antibiogramme d'E. Coli BLSE, lab. microbiologie, HMIMV, Rabat.

- A : zone d'inhibition
- B : nappe bactérienne
- C : zone d'inhibition déformée par le phénomène de synergie entre l'AMC et la CAZ.
- D : disque d'antibiotique

Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. On peut alors classer la souche étudiée en sensible (S), intermédiaire (I), ou résistante (R) en comparant le diamètre d'inhibition ou les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) à des valeurs critiques établies expérimentalement et diffusées par le Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

III-2-6-5 Résistances bactériennes et Catégorisation des germes :

Pour être efficace, un antibiotique doit parvenir au contact de la bactérie, ce qui implique qu'on tienne compte, dans la prescription, des données pharmacologiques telles que la posologie, la voie d'introduction, la diffusion tissulaire et le métabolisme de la molécule. Il doit ensuite pénétrer dans la bactérie, n'y être ni détruit ni modifié, se fixer à une cible et perturber ainsi la physiologie bactérienne. Si l'une de ces conditions n'est pas remplie, l'antibiotique, même correctement administré, se révèle inefficace. Ce phénomène appelé **résistance** est lourd de conséquences et doit être dépisté au laboratoire.

III-2-6-5-1 Les types de résistance

Les résistances naturelles, programmées sur le génome bactérien, donc fixes et constantes. A ce titre, elles constituent un critère d'identification.

Les résistances acquises, consécutives à des modifications de l'équipement génétique chromosomique ou plasmidique. Elles ne concernent que quelques souches d'une même espèce mais peuvent s'étendre vers d'autres espèces ; leur fréquence varie dans le temps mais aussi dans l'espace (région, ville, hôpital ou même service). Elles constituent un marqueur épidémiologique.

III-2-6-5-2 Les phénotypes de résistance

Quand on étudie la sensibilité d'une souche à plusieurs antibiotiques, on détermine son **phénotype de résistance** aux antibiotiques. Si la souche n'exprime que des résistances naturelles, on dit qu'elle appartient au phénotype "**sauvage**" ou sensible. Si des résistances acquises ont modifié sa sensibilité, donc elle exprime un phénotype de résistance qu'on peut identifier et de déterminer son mécanisme. Ces phénotypes sont souvent désignés par les initiales des antibiotiques devenus inactifs : ainsi une souche résistante à la Kanamycine, à la Tobramycine et à la gentamicine appartient au phénotype KTG.

III-2-6-5-3 Les niveaux de résistance

D'un point de vue bactériologique, on dit qu'une souche est résistante lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce. Il faut donc tenir compte d'un effet dose. On parle de **bas niveau de résistance** si la croissance est stoppée par de faibles concentrations d'antibiotique et de **haut niveau de résistance** si de fortes concentrations sont nécessaires.

III-2-6-5-4 Le support génétique de la résistance

La résistance naturelle est programmée dans le génome bactérien. Les modifications génétiques responsables de résistance acquise sont **chromosomiques**, secondaires à une mutation portant sur le chromosome ou **extra-chromosomiques** par acquisition de gènes.

A. Les résistances mutationnelles sont:

- spontanées : elles préexistent à l'utilisation de l'antibiotique,
 - stables : elles se transmettent verticalement dans le clone bactérien,
 - Spécifiques : elles n'intéressent qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques à la fois,
 - Rares : le taux de mutation se situe habituellement entre 10^{-7} et 10^{-8} .

La résistance par mutation est peu répandue en clinique (moins de 20% des résistances acquises). L'usage d'une monothérapie antibiotique sélectionne les souches résistantes et solution consiste donc à associer les antibiotiques. Ce type de résistance est observé, entre autres, chez les mycobactéries.

B. Les résistances extra-chromosomiques dont le support est un plasmide ou un transposon acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction.

- Elles sont fréquentes (plus de 80% des résistances acquises),
- Elles sont contagieuses et se transmettent horizontalement entre bactéries cohabitant, même d'espèces différentes,
- elles peuvent concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques, entraînant une poly résistance.

La résistance plasmidique concerne la plupart des antibiotiques. Seuls y échappent les rifamycines, les polypeptides, les nitrofuranes, les quinolones et les glycopeptides et toutes les espèces bactériennes y sont sujettes. L'usage d'un seul antibiotique dont la résistance est codée par un gène du plasmide sélectionne les souches résistantes à toutes les molécules dont le gène de résistance se trouve sur le plasmide, ce qui entraîne la sélection rapide de souches poly résistantes.

III-2-6-5-5 Mécanismes de résistance

Au fil des années les bactéries ont développées divers mécanismes de résistances pour échapper à l'action des antibiotiques :

- Modification de la perméabilité membranaire
- Production d'enzymes inactivant les antibiotiques
- Modification de la structure de la cible des antibiotiques.

A. Les Enzymes Inactivant Les Antibiotiques

Ces enzymes, produites par les bactéries, inactivent l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant. Leurs substrats sont les bêtalactamines, les aminosides, le chloramphénicol ou les antibiotiques de la famille des macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS).

1. Les bêtalactamases

- Les pénicillinases ont pour substrat préférentiel : les pénicillines G, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les uréidopénicillines.
- Les céphalosporinases hydrolysent principalement les céphalosporines de première génération (C1G) et certaines céphalosporines de seconde génération (C2G) mais aussi les pénicillines G et les aminopénicillines.

Les spectres d'action ainsi définis peuvent s'étendre lorsque la production de bêtalactamases est importante. D'autres caractères des bêtalactamases ont une importance en bactériologie médicale :

- Leur localisation : extracellulaire (Gram +) ou périplasmique (Gram -).
- Leur biogénèse : inductible (pénicillinase de *Staphylococcus aureus* et Céphalosporinase des Gram -) ou constitutive (pénicillinase des Gram -)
- Leur déterminisme génétique : chromosomique (céphalosporinases) ou plasmidique (pénicillinases des Gram -)
- Leur sensibilité aux inhibiteurs tels que l'acide clavulanique (les pénicillinases sont inhibées, les céphalosporinases résistent)

Tableau 2 : Principales caractéristiques des bêta-lactamases

	Pénicillinase de St. aureus	Pénicillinases des Gram -	Céphalosporinases	B.L.S.E*
extracellulaire	+	-	-	-
périplasmique	-	+	+	+
chromosomique	-	-	+	-
Plasmidique	+	+	-	+
Inductible	+	-	+	-
Constitutive	-	+	+	+
Inhibée par l'acide Clavulanique	+	+	-	+

+ = oui, - = non, * = bêta-lactamases à spectre étendu

➤ **Les pénicillinases plasmidiques**

Elles confèrent des résistances acquises.

✓ La bêta-lactamase de *Staphylococcus aureus*

Elle est inductible : sa production est accrue en présence de pénicilline.

Elle est extracellulaire, c'est à dire excrétée par la bactérie.

Elle inactive les pénicillines G et V, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les uréidopénicillines. Elle est inactive sur les autres bétalactamines et en particulier sur les pénicillines M.

Elle est sensible aux inhibiteurs de bétalactamases : l'Amoxicilline associée à l'acide clavulanique (Augmentin) retrouve son activité chez les staphylocoques résistants par production de bétalactamase.

Tableau 3 : Action des bétalactamases sur les bétalactamines

Antibiotique	Pénicillinases		Céphalosporinases		B.L.S. E. *
	<i>St. Aureus</i>	Bacilles à Gram négatif	Inductible	Déréprimée	
		Bas niveau			Haut niveau
Péni G, V	+	+	+	+	+
Péni M	-				
Péni A	+	+	+	+	+
Péni A + ac cl	-	-	V	+	V
Carboxypeni.	+	+	+	-	+
Carboxypeni + Ac. cl	-	-	V	-	V
Uréidopeni.	+	-	+	-	+
C1G	-	-	+	+	+
C2G		-	+	+	+
C3G		-	-	-	+
Céphamycines		-	-	V	+
Monobactames		-	-	-	+
Carbapénems	-	-	-	-	-

(+) = active, la souche est résistante, (-) = inactive, la souche reste sensible,

(V) = activité faible, l'effet est variable, * Bétalactamase à spectre étendu

✓ Les bêta-lactamases des bacilles à Gram négatif

Elles sont nombreuses et constituent plusieurs groupes dont la dénomination n'est fondée sur aucun consensus :

- TEM du nom du malade chez qui on a isolé la première souche porteuse de ce type d'enzyme,
- SHV pour sulfhydryl-variable,
- OXA hydrolysant l'Oxacilline
- PSE Pseudomonas specific enzyme

Dans ces groupes, des variantes sont différenciés par des indices numériques (*Quelques exemples de bêta-lactamases de bacilles à Gram négatif: TEM 1 à TEM 20, SHV 1 à SHV 5, OXA 1 à OXA 3, PSE 1 = CARB 2, PSE 2 = OXA 4, PSE 3 = CARB 4, PSE 4 = CARB 1*).

PSE1 et PSE4 sont maintenant appelées CARB2 et CARB1 à cause de leur action préférentielle sur les carboxypénicillines

En outre, la même enzyme est parfois désignée par des noms différents.

Les TEM sont surtout présentes chez les entérobactéries tandis que les *Pseudomonas* produisent principalement des PSE ou des OXA.

TEM1 s'est propagé vers d'autres espèces comme *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas*.

Ces bêta-lactamases sont constitutives, de localisation périplasmique.

Leurs effets dépendent de la quantité d'enzyme élaborée. Quand le niveau de production est élevé, les aminopénicillines, les carboxypénicillines, les acyluréido-pénicillines, les amidinopénicillines les céphalosporines de 1ère et 2ème génération (C1G et C2G) et, parmi les céphalosporines de 3ème génération (C3G), le Céfamandole et la Cefsulodine, sont inactivés tandis que les autres C3G, les monobactames et les carbapénems restent actifs. Si le niveau de production est bas, la sensibilité est maintenue pour les acyluréidopénicillines et les céphalosporines. (*Tableau 2*)

Ces bêta-lactamases sont des pénicillinases et sont donc inactivées par les inhibiteurs de bêta-lactamases, totalement si le niveau de production est bas mais plus ou moins complètement si le niveau de production est élevé.

En 1991, on a isolé des souches d'*Escherichia coli* résistantes à l'association Amoxicilline-acide clavulanique. Cette résistance est due à une mutation qui, affectant le gène codant la bêta-lactamase TEM, et lui confère une sensibilité diminuée aux inhibiteurs. Cette catégorie de bêta-lactamases a été dénommée TRI (pour TEM résistantes aux inhibiteurs).

➤ **Les Pénicillinases chromosomiques**

Ces pénicillinases constitutives, de type SHV1, sont spécifiques des espèces *Klebsiella* et *Levinea*.

La résistance qu'elles confèrent est une résistance naturelle aux pénicillines A, aux carboxypénicillines mais leur bas niveau de production sauvegarde une sensibilité aux autres bêta-lactamines. Elles sont de plus sensibles à l'effet des inhibiteurs des bêta-lactamases ; ainsi l'association de l'acide clavulanique à l'Amoxicilline ou à la Ticarcilline restitue à ces deux molécules leur activité sur les souches productrices.

➤ **Les Céphalosporinases**

Les céphalosporinases sont des bêta-lactamases codées par un gène chromosomique. Leur localisation est périplasmique. Elles sont produites, à bas niveau, par les *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus indole* +, *Morganella*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Serratia* et rendent ces espèces résistantes aux aminopénicillines et aux C1G mais n'altèrent pas la sensibilité à la plupart des C2G, aux C3G ainsi qu'aux acyluréidopénicillines, monobactames et carbapénems. (Tableau 3)

✓ **Les Céphalosporinases inductibles**

La production de Céphalosporinase chromosomique est souvent inductible. Le gène qui règle leur production est soumis au contrôle d'un répresseur dont l'action peut être levée par des "inducteurs" : le gène est alors activement transcrit et la production de l'enzyme

augmente. Ces inducteurs sont des bêtalactamines (imipénème, Cefoxitine). L'induction peut être détectée *in vitro* en plaçant, sur la boîte d'antibiogramme, un disque de C3G à côté d'un disque d'imipénème ou de Cefoxitine : on obtient une image d'antagonisme avec diminution de la zone d'inhibition autour du disque de C3G en regard du disque d'imipénème ou du la Cefoxitine. (fig25)

In vivo, la production de Céphalosporinase inductible ne paraît pas altérer l'efficacité thérapeutique des C3G.

✓ Les Céphalosporinases déréprimées

Certaines espèces telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* peuvent perdre par mutation le contrôle de la production de Céphalosporinase qui est alors déréprimée et produite beaucoup plus abondamment.

Les souches, ainsi modifiées, deviennent résistantes à toutes les bêtalactamines sauf les amidinopénicillines et les carbapénems. La mutation peut survenir inopinément au cours d'un traitement et entraîner des échecs thérapeutiques.

✓ Les Céphalosporinases d'*Escherichia coli*

Chez 7% des souches d'*Escherichia coli*, on met en évidence une Céphalosporinase non inductible. Sa présence est due à l'augmentation par mutation de la production de la Céphalosporinase chromosomique naturelle. Elle inactive les pénicillines A, les C1G et la Cefoxitine. Les autres C2G, les C3G, l'Aztréonam et les pénèmes restent actifs tandis que les carboxy et uréidopénicillines ont une activité légèrement diminuée mais encore suffisante.

➤ **Les Bêtalactamases à spectre étendu : BLSE**

Les bêtalactamases à spectre étendu (B.L.S.E.) sont des enzymes apparues à la suite de modifications survenues sur les plasmides qui codent pour les TEM1, TEM2, SHV1 ou SHV2 et sont appelées TEM3 à TEM9 ou SHV3 à SHV5. Elles hydrolysent toutes les bêtalactamines jusqu'aux C3G mais respectent les Céphamycines (au moins *in vitro*) et l'imipénème. Elles sont plasmidiques donc transférables et sensibles aux inhibiteurs de bêtalactamases.

On les trouve surtout chez *Klebsiella pneumoniae* et plus rarement chez *Enterobacter*, *Citrobacter* ou *Escherichia coli*.

On les détecte *in vitro* en testant côte à côte deux disques, une C3G et une association contenant de l'acide clavulanique. On obtient une image caractéristique de synergie d'action en "bouchon de champagne". (fig. 26) Il importe de pratiquer cette recherche car les souches qui produisent ces enzymes, multirésistantes, peuvent, sur l'antibiogramme standard, être déclarées sensibles car les diamètres d'inhibition mesurés autour des disques des C3G ne sont pas toujours diminués.

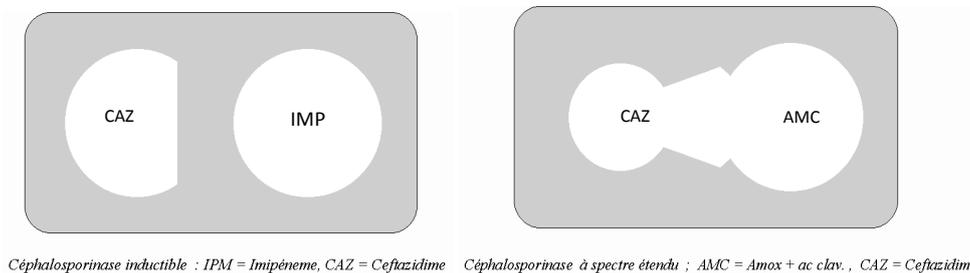


Fig. 25

Fig. 26

Recherche des bétalactamases par le test de synergie *in vitro*

2. Les enzymes inactivant les aminosides

Les enzymes inactivant les aminosides sont constitutives, intracellulaires, non diffusibles, codées par un plasmide donc transférable. Elles ne modifient l'antibiotique qu'après sa pénétration dans la cellule bactérienne. On les classe en trois groupes en fonction de la réaction qu'elles catalysent

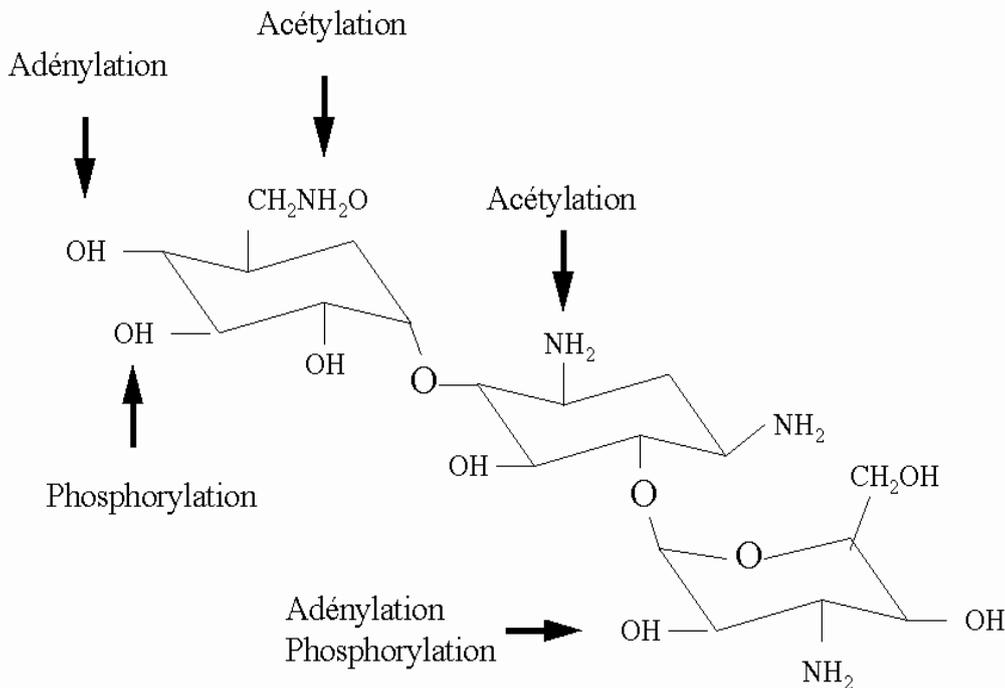


Figure 27: Différents site d'action des enzymes inactivant les aminosides

- Aminositides phosphotransférases APH
- Aminositides adénylitransférases ANT
- Aminositides acétylitransférases AAC

Possibilités d'inactivation d'un aminoside : Dans chaque groupe, il existe des sous-classes, différenciées selon leur site d'action sur la molécule d'aminoside, et pour certaines de ces enzymes, il existe des iso-enzymes. Au total, on en dénombre une vingtaine de formes différentes. Seules, les APH confèrent un haut niveau de résistance mais la présence d'une enzyme est suffisante pour entraîner une résistance *in vivo*, même si celle-ci n'est pas toujours décelable *in vitro* sur l'antibiogramme. Il convient donc d'étudier le comportement de la souche en présence de différents aminosides, et d'établir le phénotype de résistance, pour tester la sensibilité de la bactérie.

Il est toutefois difficile de déduire le génotype de la bactérie du phénotype de résistance observé car chaque enzyme peut modifier plusieurs antibiotiques mais chaque bactérie peut produire des enzymes différentes puisqu'elle peut héberger plusieurs plasmides.

3. Les enzymes inactivant les M.L.S : Macrolides-Lincosamides-Streptogramines)

Mises en évidence récemment, ces enzymes ont une faible influence sur la fréquence de la résistance aux antibiotiques de la famille de macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS). On a décrit chez les staphylocoques des enzymes inactivant l'érythromycine, les streptogramines A et B ou les lincosamides. Les résistances qu'elles occasionnent restent limitées aux antibiotiques cibles.

4. Enzymes inactivant les phenicolés

Une résistance plasmidique due à la production d'une "chloramphénicol acétyltransférase" est décelable chez certaines entérobactéries et parmi différentes espèces appartenant aux genres *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Pseudomonas*.

Chez *Salmonella* Typhi, de véritables épidémies de résistance au chloramphénicol par production d'enzyme ont modifié le schéma classique du traitement de la fièvre typhoïde.

B. Résistance Par Diminution De La Perméabilité

Pour qu'un antibiotique soit efficace, il faut d'abord qu'il pénètre dans la bactérie et tout facteur altérant la perméabilité cellulaire est cause de résistance. Ce mécanisme n'affecte pas les "Gram positifs" car les antibiotiques diffusent librement à travers le peptidoglycane qui constitue la paroi de ces bactéries.

Chez les bactéries à Gram négatif, au contraire, la barrière constituée par le lipopolysaccharides (LPS) de la membrane externe s'oppose à la pénétration des antibiotiques, mais des porines, protéines formant canaux, permettent le passage de molécules hydrophiles comme les pénicillines à large spectre, les céphalosporines, les aminosides, les phenicolés ou les tétracyclines.

Des mutations entraînant des modifications quantitatives ou qualitatives de ces porines sont responsables de résistances acquises souvent croisées à plusieurs familles d'antibiotiques. Elles sont constatées chez les entérobactéries (*E. coli*, *P. mirabilis*, *E. cloacae*, *Salmonella*, *Serratia*), chez les *Pseudomonas*, *Haemophilus* et *Neisseria gonorrhoeae* mais n'occasionnent pas toujours de résistances perçues cliniquement.

Une modification d'une porine spécifique entraîne une résistance isolée à l'imipénème chez *Pseudomonas aeruginosa* mais c'est une modification de composition du LPS qui semble être la cause de la résistance des *Pseudomonas* aux bêtalactamines.

Le transport actif des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite l'intervention d'un mécanisme oxydatif qui peut être inactivé par mutation entraînant une résistance croisée à tous les aminosides (*Pseudomonas*, *E. coli*) ou par défaut d'oxygène expliquant la résistance naturelle à ces molécules des bactéries anaérobies strictes ou microaérophiles comme les streptocoques.

Un défaut de perméabilité aux antibiotiques (phénicolés, quinolones, sulfamides, triméthoprime) ou une insuffisance de concentration intracellulaire par excrétion rapide ou efflux (tétracyclines) peuvent être également la cause de résistances.

C. Résistance Par Modification De La Cible

Pour qu'un antibiotique soit efficace, il faut qu'il se fixe à une cible dans la bactérie. Si cette cible est remplacée ou modifiée de telle manière que l'antibiotique ne puisse plus s'y fixer, la bactérie acquiert une résistance qui souvent s'étend à toute une famille d'antibiotiques.

1. Modification de protéines liantes les pénicillines (PLP) :

Les protéines de liaison à la pénicilline (PLP) sont des enzymes qui interviennent dans l'assemblage du peptidoglycane de la paroi. La fixation des bêtalactamines inactive leurs fonctions enzymatiques, la bactérie, ainsi privée de paroi, devient très sensible aux systèmes autolytiques.

La résistance est due à la diminution d'affinité de ces PLP, soit par augmentation de leur production, soit par synthèse de nouvelles PLP de très faible affinité.

Ce type de résistance est surtout observé chez les staphylocoques "Méti R", chez les pneumocoques "de résistance anormale à la pénicilline" et plus rarement chez les entérocoques.

Il s'agit de résistances mutationnelles (staphylocoques, entérocoques) ou acquises par transformation (Pneumocoques)

2. Modification de la cible ribosomale

Les ribosomes sont le lieu des synthèses protéiques. Ils peuvent être altérés dans leur structure et leur fonctionnement par la fixation d'un antibiotique.

Une modification de la cible ribosomale acquise par mutation diminue l'affinité du site de fixation de l'antibiotique et rend la bactérie résistante.

Ce mécanisme est responsable de résistances aux tétracyclines, aux macrolides et lincosamides, aux phénicolés, à la fucidine et plus rarement aux aminosides.

3. Altération de la synthèse des acides nucléiques

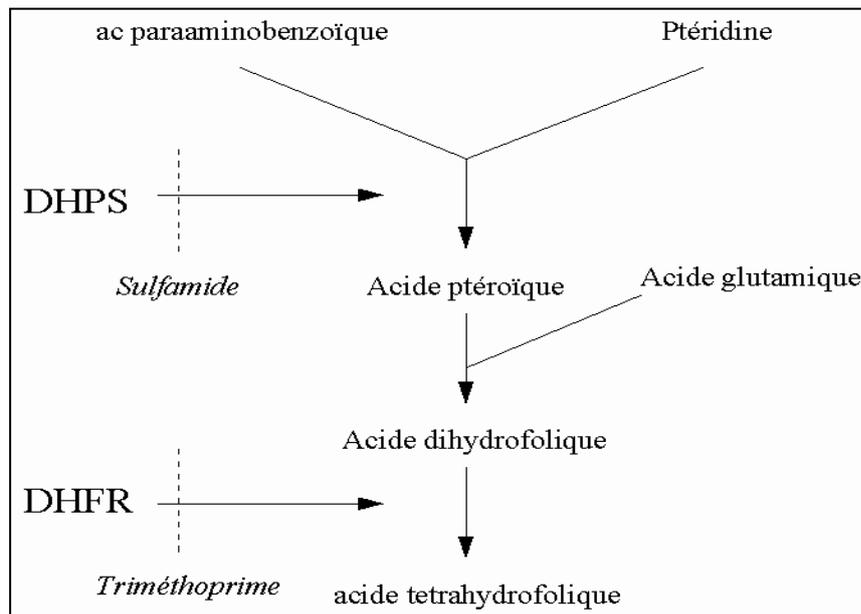
L'ADN gyrase est une enzyme essentielle pour la réplication de l'ADN. En paralysant son activité, les antibiotiques de la famille des quinolones ont un effet bactéricide. Des mutations peuvent conduire à la production d'enzymes modifiées insensibles à ces antibiotiques.

L'ARN polymérase (transcriptase) est nécessaire à la synthèse des ARN messagers. Les rifamycines bloquent l'action de cette enzyme. Les résistances acquises par mutation sont dues à la production de transcriptase modifiée.

L'acide tétrahydrofolique est un coenzyme indispensable à la synthèse des acides nucléiques. La plupart des bactéries n'assimilent pas les folates exogènes et doivent donc en effectuer la synthèse. Celle-ci se fait à partir de l'acide para-amino-benzoïque (PAB) et de la ptéridine en deux étapes essentielles qui nécessitent l'intervention d'enzymes : la dihydroptéroylsynthétase (DHPS) et la dihydrofolate réductase (DHFR). Les sulfamides inhibent la DHPS et le triméthoprimine la DHFR.

Outre les résistances naturelles de *Enterococcus faecalis* pour les sulfamides et des *Acinetobacter*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Enterococcus* pour le triméthoprimine, on connaît de nombreuses résistances acquises par hyperproduction de PAB, de DHPS, de DHFR, par synthèse directe de la thymine à partir de la thymidine, par modification de la DHPS ou de la DHFR fixant moins bien les sulfamides ou le triméthoprimine ou encore par diminution de la pénétration des sulfamides.

Ces résistances sont acquises par mutation ou codées par des plasmides ou des transposons.



**Figure 28 : La synthèse d'acide folique chez les bactéries
et son inhibition par les antibiotiques**

III-2-6-5-6 Les bactéries multirésistantes: les "B.M.R"

C'est des souches bactériennes résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques pour lesquelles les possibilités thérapeutiques sont réduites et parfois anéanties.

On constate, en milieu hospitalier surtout, une recrudescence de la fréquence d'isolement de ces souches qui doivent être détectées rapidement et signalées car elles imposent aux services d'hospitalisation des mesures strictes pour éviter leur diffusion.

En outre, des recommandations très précises qui ont fait l'objet d'un consensus doivent être appliquées pour le traitement des infections dont ces souches sont responsables.

Certaines espèces bactériennes sont plus particulièrement concernées par cette multirésistance.

A/Streptococcus pneumoniae de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSAP pour pneumocoques de sensibilité anormale à la pénicilline) pour lesquels la CMI (la concentration minimale inhibitrice) de la pénicilline est supérieure à 0,06 mg/l. Les souches pour lesquelles cette CMI dépasse 1 mg/l sont résistantes et cette résistance s'étend à la plupart des bêtalactamines dont la CMI doit être mesurée. On recommande un traitement associant glycopeptides et Ceftriaxone ou Cefotaxime.

Cette résistance est détectée au laboratoire en testant l'activité de l'Oxacilline. Elle est due à une modification des PLP acquise par transformation.

B/Staphylocoques méticillino-résistants (Staph. Méti R ou SARM) dont la fréquence varie selon les sites hospitaliers. Les pourcentages signalés en France oscillent entre 10 et 60%. Cette résistance s'étend à toutes les bêtalactamines et aux fluoroquinolones. Restent actifs les glycopeptides, les synergistines et moins fréquemment les autres antistaphylococciques : rifampicine, acide fusidique et Fosfomycine.

Le traitement recommandé des infections à Staph. Méti R est une association glycopeptides-aminoside ou autres antistaphylococciques testés actifs sur l'antibiogramme mais toujours en association.

Le mécanisme responsable de cette résistance est une modification des PLP. On la détecte en testant l'Oxacilline.

C.. Les entérobactéries et souches de Pseudomonas productrices de Céphalosporinase dérégulée. Ces souches sont résistantes aux bêtalactamines jusqu'aux uréidopénicillines, carboxypénicillines, C3G et monobactames. Seul l'imipénème reste actif ainsi que les dernières C3G : ceftioxime et Céfépime.

Pour traiter les infections provoquées par ces souches, on utilise les bêtalactamines suscitées ou une fluoroquinolone en association avec un aminoside actif.

L'hyperproduction de Céphalosporinase est due à une mutation atteignant le gène régulateur.

- ✓ Les ***Pseudomonas*** sont résistants aux pénicillines A, G et M, aux C1G et C2G et à la plupart des C3G, restent actifs les carboxypénicillines, les uréidopénicillines et les céphèmes ainsi que certaines C3G dites "anti pyocyaniques" telles que Cefsulodine, caféisme et Cefpirome.

Les souches hyper productrices de Céphalosporinase sont plus résistantes, en particulier aux carboxy et uréidopénicillines. Enfin, certaines souches sont résistantes à l'imipénème par un mécanisme d'imperméabilité.

- ✓ **Les entérobactéries** productrices de bêtalactamase à spectre étendu (BLSE), principalement *Klebsiella* et *Enterobacter* mais parfois *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, résistent à toutes les bêtalactamines sauf à l'imipénème et aux céphamycines. Cette bêtalactamase plasmidique est inactivée par les inhibiteurs de bêtalactamase.

Les infections sévères dues à ces souches sont traitées par imipénème ou méropénème associé à un aminoside actif.

Pour les infections moins graves, on peut utiliser une céphamycine ou une céphalosporine associée à un produit contenant un inhibiteur de bêtalactamase.

La détection de ces souches doit être rapide car la résistance de ce type diffuse rapidement. Elle se fait en testant côte à côte une C3G et une association contenant de l'acide

clavulanique: on observe une image de synergie d'activité entre les deux disques donnant la classique image en "bouchon de champagne".

D. Les Acinetobacter et en particulier l'espèce baumannii résistent naturellement à de nombreux antibiotiques (pénicillines, céphalosporines, aminosides et quinolones). Les produits les plus souvent actifs sont l'imipenème et les carboxypénicillines ou uréidopénicillines associées à un inhibiteur. Ces produits doivent être utilisés en association.

En guise de conclusion, une synthèse..... [27]

**Tableau 4: Les différents types des mécanismes de résistances
qui touchent les principaux antibiotiques**

Bétalactamines	Bétalactamases	staphylocoques bac. à Gram nég.	plasmidique ou chromosomique
	Modification des PLP	staphylocoques	Mutation
		pneumocoques	transformation
		entérocoques	Mutation
		gonocoques	
		<i>Haemophilus</i>	
<i>Pseudomonas</i>			
Imperméabilité	<i>Pseudomonas</i>	Mutation	
Aminosides	Enzymes APH, ANT, AAC	coques à Gram + bacilles à Gram -	Plasmide
M L S	Modification ribosomes	coques à Gram +	Mutation
	Imperméabilité	<i>Haemophilus</i>	Mutation
	Inactivation enzymatique		Plasmide
Quinolones	Modification gyrase	bacilles à Gram -	Mutation
	Imperméabilité		
Tétracyclines	Elimination		Plasmide
	Imperméabilité		Mutation
Phénicolés	Inactivation enzymatique		Plasmide
Polypeptides	Imperméabilité	bacilles à Gram -	Mutation
Rifampicine	Transcriptase modifiée		Mutation
Glycopeptides		entérocoques	Plasmide

III-2-6-5-7 Phénotypes de résistance des entérobactéries aux bêtalactamines :

A) Résistances naturelles:

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux pénicillines G et M, en fonction des résistances supplémentaires aux autres β -lactamines, elles sont classées en quatre groupes :

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

B) Résistances acquises:

Présentation des phénotypes de résistance des entérobactéries aux β -lactamines :

Antibiotiques marqueurs	Pénicillina se bas niveau	Pénicillinase haut niveau	Pénicillinase résistante aux I β L	Céphalospori nase bas niveau	Céphalosporin ase haut niveau	BLSE ¹
Amoxicilline AMX aminopénicillines	R	R	R	R	R	R
Amoxicilline + Ac.clavulanique AMC aminopénicillines+I β L	S	I/R	R	R ²	R ²	R ³
Ticarcilline TIC carboxypénicillines	R	R	R	S	R	R
Mécillinam MEC amidinopénicillines	S	R	R	S	S	R
Cefalotine CF (C1G)	S	R	S	R	R	R
Ceftazidime CTX (C3G)	S	S	S	S	R	R ou synergie ⁴

1 : BLSE : β -lactamase à spectre élargie. | **2** : I β L : les inhibiteurs des β -lactamases n'inhibent pas les Céphalosporinase (les céphalosporinases sont néanmoins des β -lactamases) | **3** : souche résistante parfois intermédiaire, dans tous les cas le diamètre d'inhibition pour l'AMC est supérieur à celui de l'AMX. | **4** : Certaines BLSE peuvent donner un profil intermédiaire ou sensible avec une C3G. La mise en évidence d'une synergie entre l'acide clavulanique (du disque AMC) et la C3G permettent de conclure à la présence d'une BLSE. Chez les entérobactéries on rencontre des BLSE chez *Klebsiella pneumoniae* et plus rarement chez *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Escherichia coli*.

RAPPELS :

1. Pénicillinases :

Le plus souvent **d'origine plasmidique**, leur production **ne nécessite pas d'inducteurs**. Ces Pénicillinases sont **totalemment ou partiellemment inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases** (IBL : comme l'acide clavulanique). Elles sont exprimées à bas niveau mais elles peuvent par modification de leur gène de régulation (par mutation) être exprimées à haut niveau. On parle alors de **pénicillinases à haut niveau** qui sont alors actives sur un plus grand nombre de β -lactamines dont certaines céphalosporines.

2. Céphalosporinases :

Le plus souvent **d'origine chromosomique**, elles ne sont produites **qu'en présence d'inducteurs** qui sont presque toujours des β -lactamines. **Les inhibiteurs de β -lactamases n'inhibent pas ces enzymes**. Ces enzymes peuvent être produites à bas niveau par les souches sauvages : **Céphalosporinase de bas niveau ou réprimée**. Une mutation sur les gènes régulateurs aboutit à une hyperproduction de ces enzymes : **Céphalosporinase de haut niveau ou dérprimée**.

3. β -Lactamase à Spectre Elargi ou Etendu : BLSE

Les β -lactamases à spectre élargi (BLSE) correspondent à des pénicillinases, qui après mutation des gènes initiaux parentaux sont devenues **actives sur toutes les β -lactamines** (sauf l'imipénème). Elles sont partiellement inhibées par l'acide clavulanique. [28]



Deuxième partie

I. MATERIEL ET METHODES :

I-1 L'étude, lieu et période :

Il s'agit d'une étude descriptive, rétrospective, réalisée dans le laboratoire de Microbiologie à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V (HMIM-V-) de Rabat durant l'année 2009/2010.

I-2 Matériel :

I-2-1 Critères d'inclusion :

Tous les prélèvements pulmonaires provenant des patients externes ou hospitalisés dans les différents services de l'hôpital (Pneumologie, Réanimation médicale, Médecine, Chirurgie, Urgence, Neurologie, et Gynécologie) quelque soit l'âge et le sexe.

I-2-2 Critères d'exclusion

Sont exclus tous les autres prélèvements non pulmonaires ou a visée épidémiologique et les prélèvements pulmonaires pour la recherche des Mycobactéries.

I-2-3 Recueils des données :

On a utilisé le LABO-SERVEUR pour collecter les données sur Microsoft Excel

I-2-4 Exploitations et traitement des données :

Les données sont traitées à l'aide du logiciel SPSS 18 (Statistical Package for Social Sciences)

I-3 Méthodes :

I-3-1 Méthodes des prélèvements :

C'est au niveau du service de pneumologie de l'hôpital militaire d'instructions Mohammed-V RABAT, que sont réalisés la majorité des prélèvements traités dans cette étude :

➤ **Le prélèvement des expectorations:**

Les expectorations sont recueillies le matin à jeun dans un crachoir stérile sans rinçage de la bouche en cas de recherche de BK (bacille de Koch).

L'examen cytobactériologique du crachat (ECBC) : celui-ci est réalisé le matin à jeun mais avec un rinçage préalable de la bouche.

➤ **L'aspiration bronchique :**

Permet de recueillir les sécrétions bronchiques tout en circuitant l'oropharynx.

Geste réalisé sous anesthésie locale à l'aide d'un fibroscope bronchique. En cas d'absence de sécrétions, on procède à un lavage aspiratif, qui consiste à instiller 5 ml de sérum physiologique et les aspirer par la suite.

➤ **Le lavage broncho alvéolaire : LBA**

C'est une technique d'exploration qui consiste à injecter, sous fibroscopie souple, dans un territoire bronchique segmentaire ou sous segmentaire, du sérum physiologique (3 fois 5 ml) et de la recueillir par aspiration douce. Des examens cytologiques, bactériologiques, biochimiques, minéralogiques et immunologiques du liquide du LBA permettent d'avoir des indications pour le diagnostic de certaines infections pulmonaires.

➤ **Le prélèvement distale protégé : PDP : Prélèvement réalisé dans le service de réanimation médicale**

C'est l'introduction d'un cathéter spécifique -qui doit être d'usage unique- pour le PDP à l'intérieur du fibroscope, permettant de réaliser un prélèvement protégé au niveau de la lésion tout en circuitant la flore oropharyngée et dans les voies supérieures.

Le prélèvement se fait à l'aide d'un double cathéter et l'ensemble est introduit à l'intérieur d'un fibroscope.

A noter qu'à l'HMIMV-Rabat le dispositif servant à ce prélèvement est réutilisable après stérilisation.

I-3-2 Traitements des prélèvements au laboratoire de microbiologie à l'HMIMV-Rabat :

Arrivés au laboratoire de microbiologie, les prélèvements pulmonaires sont traités au niveau de la pailasse des ponctions, en suivant un protocole de pailasse affiché.

I-3-2-1 Examen cytobactériologique du crachat et aspiration trachéobronchique :

I-3-2-2 Examen cytobactériologique du lavage broncho alvéolaire :

I-3-2-3 Examen cytobactériologique du PDP :

NB : le détail de chaque protocole à suivre, en annexe.



Troisième partie

I-RESULTATS :

I-1 Répartitions des patients selon l'âge et le sexe :

Au cours de cette étude, nous avons colligé 307 patients avec une différence de fréquence concernant l'âge et le sexe. (Tabs.5, 6,7 et Figs.29, 30)

**Tableau 5 Moyenne d'âge des patients, lab. microbiologie
HMIM V- Rabat 2009-2010**

Effectif	Minimum	Maximum	moyenne
307	2	84	45,40+/-21,871

Tableau 6 Répartition de tranche d'âge, lab. microbiologie HMIM V -Rabat 2009-2010

Tranche d âge	Fréquence	pourcentage
NR	162	52,8
0—10	11	3,6
11—20	18	5,9
21—30	16	5,2
31—40	2	0,7
41—50	23	7,5
51—60	39	12,7
61—70	22	7,2
71—80	12	3,9
81—90	2	0,7
Total	307	100,0

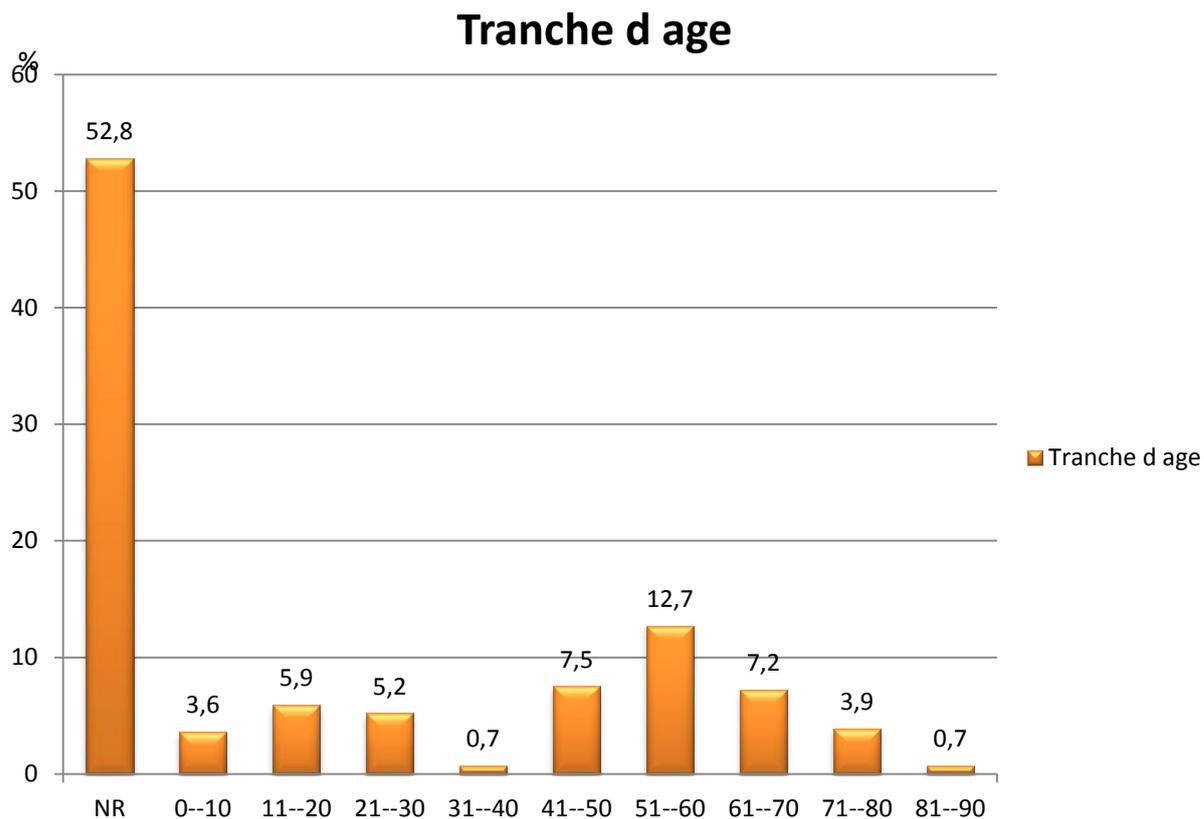


Figure 29 Répartition des tranches d'âge, lab. microbiologie HMIM V -Rabat 2009-2010

**Tableau 7 Répartition des patients en fonction du sexe, lab. microbiologie HMIM V-
Rabat 2009-2010**

Sexe	Fréquence	Pourcentage
NR	38	12,4
F	75	24,4
M	194	63,2
Total	307	100,0

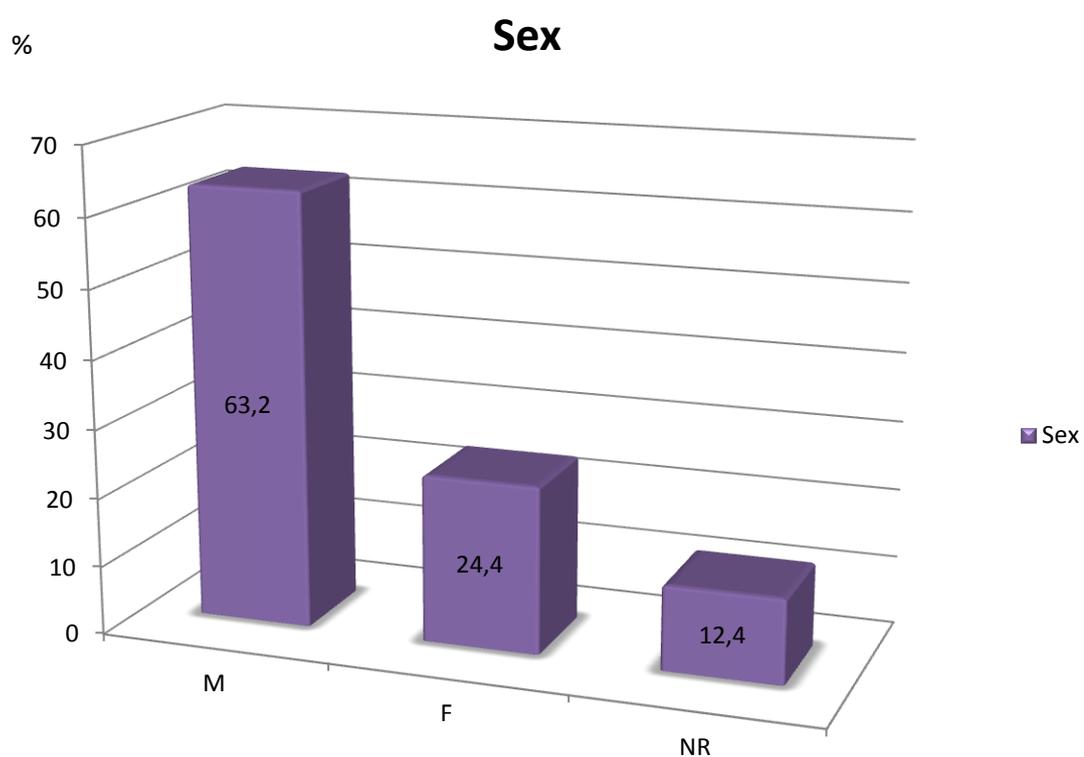


Figure 30 Répartition du sexe, lab. microbiologie HMIM V -Rabat 2009-2010

I-2 répartition des patients selon les services :

Les consultations externes prédominaient, alors que 38 patients restent d'origine inconnue (Tab.8, Fig.31)

**Tableau 8 Répartition des patients en fonction des services, lab. microbiologie HMIM V-
Rabat 2009-2010**

Services	Fréquence	Pourcentage
EXTERNES	87	32,34
ANESTHESIOLOGIE	1	0,37
CAISSON HYPERBARE	1	0,37
CARDIOLOGIE	2	0,74
CENTRE DE DIAGNOSTIC	15	5,57
CHIRURGIE	7	2,66
LES MEDECINES	32	11,89
NEUROLOGIE ET NEUROCHIRURGIE	20	7,43
PEDIATRIE	16	5,94
PNEUMOLOGIE	54	20,07
RADIOLOGIE	8	2,9
REANIMATION	21	7,80
RHUMATOLOGIE	2	0,74
URGENCES	2	0,74
UROLOGIE	1	0,37
Total	269	100,0

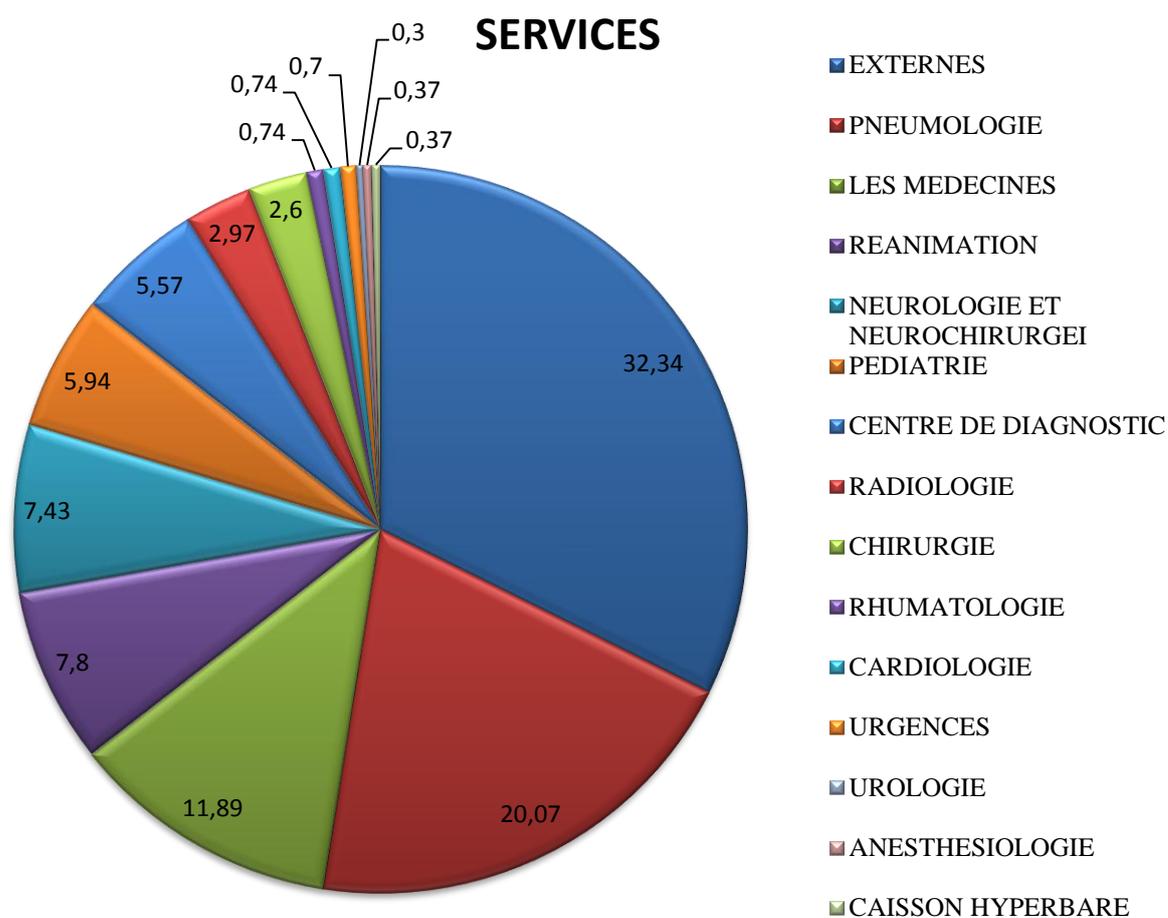


Figure 31 Répartition des patients en fonction des services, lab. Microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

I-3 Répartition des patients selon le type de prélèvements :

Les prélèvements pulmonaires sont repartis en 5 catégories : (Tab.9 et Fig.32)

Tableau 9 Répartition des prélèvements pulmonaires selon leur nature, lab. microbiologie HMIMV-Rabat 2009-2010

Prélèvements	Fréquence	Pourcentage
PDP	102	33,2
ECBC	69	22,5
LP	65	21,2
AB	25	8,1
LBA	6	2,0
NR	40	13,0
Total	307	100,0

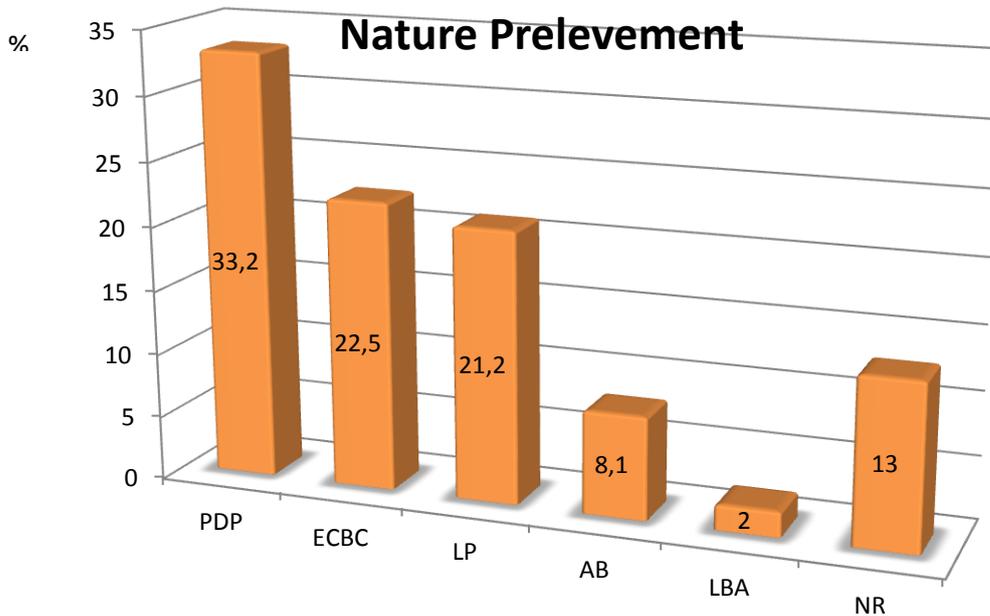


Figure 32 Répartition des prélèvements selon leur nature, lab. microbiologie HMIMV-Rabat 2009-2010

I-4 Fréquences et pourcentages des bactéries rencontrées :

Les cultures des prélèvements pulmonaires ont révélées 69 cultures stériles, 76 sans germes pathogènes, 15 cultures positives à des candidas albicans et non albicans et les 146 restantes à une ou plusieurs bactéries. (Tab.10, 11 et Fig.33, 34)

Tableau 10 Répartition des formes des bactéries, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

Forme bactéries	Fréquence	Pourcentage
BGN	109	74,65
CGP	29	19,86
BGP	8	5,47
Total	146	100,0

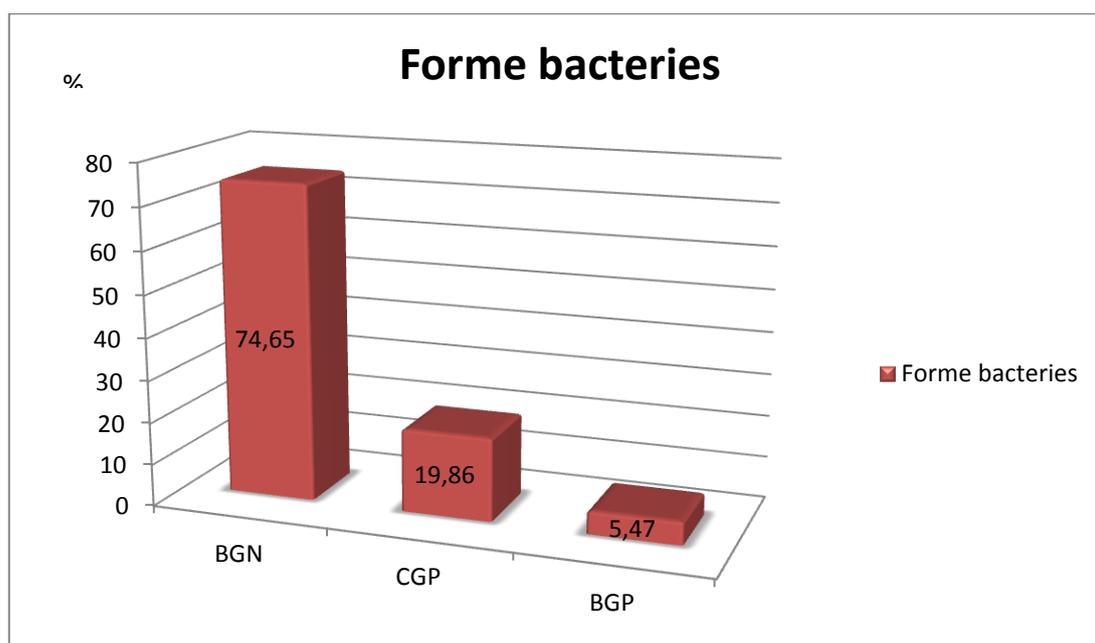


Figure 33 Répartition des bactéries selon leur forme, lab. Microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

**Tableau 11 Les espèces bactériennes retrouvées dans les différents prélèvements
pulmonaires, Lab. microbiologie HMIMV-RABAT 2009-2010**

Bactéries	Fréquence	Pourcentage
Acinetobacter	48	32,87
Citrobacter koseri	1	0,68
Corynebacterium species	8	5,47
Enterobacter	4	2,73
Enterococcus	2	1,36
Escherichia coli	5	3,42
Haemophilus	5	3,42
Klebsiella	12	8,21
Proteus mirabilis	4	2,73
Pseudomonas	29	19,86
Staphylococcus aureus	14	9,58
Staphylococcus coag négative	9	6,16
Stenotrophomonas maltophilia	1	0,68
Streptococcus pneumoniae	1	0,68
Streptocoques non groupables	3	2,05
Total	146	100,0

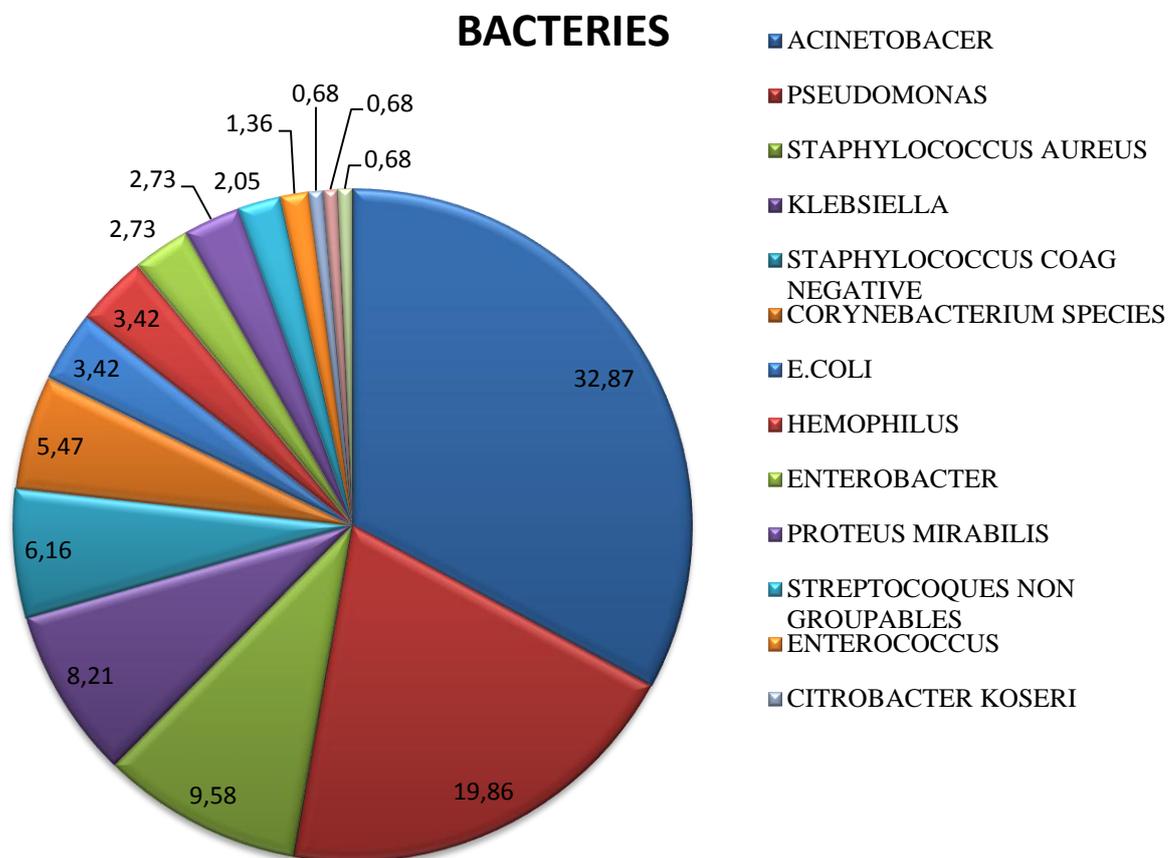


Figure 34 Répartition des espèces bactériennes dans tous les prélèvements pulmonaires, Lab. microbiologie HMIMV-RABAT 2009-2010

I-5 Répartition des espèces bactériennes selon les prélèvements :

La répartition des espèces bactériennes diffère en fonction des prélèvements.

I-5-1 Les Prélèvements distaux protégés PDP :

Dans ce type de prélèvement l'*Acinetobacter baumannii* est l'espèce prédominante.
(Tab.12, Fig.35)

**Tableau 12 Les espèces bactériennes isolées dans les PDP, lab. microbiologie HMIM V-
Rabat 2009-2010**

Espèces Bactériennes	Pourcentage
Acinetobacter	34,31
AGP	23,52
Pseudomonas	14,7
Staphylococcus aureus	7,84
Levure candida non albicans	3,92
Staphylococcus coag négative	2,94
Levure candida albicans	2,94
Klebsiella	1,96
CDS	1,96
E coli	0,98
Haemophilus	0,98
Proteus mirabilis	0,98
Streptococcus pneumoniae	0,98
Corynebacterium	0,98
Enterobacter	0,98
Total	100.00

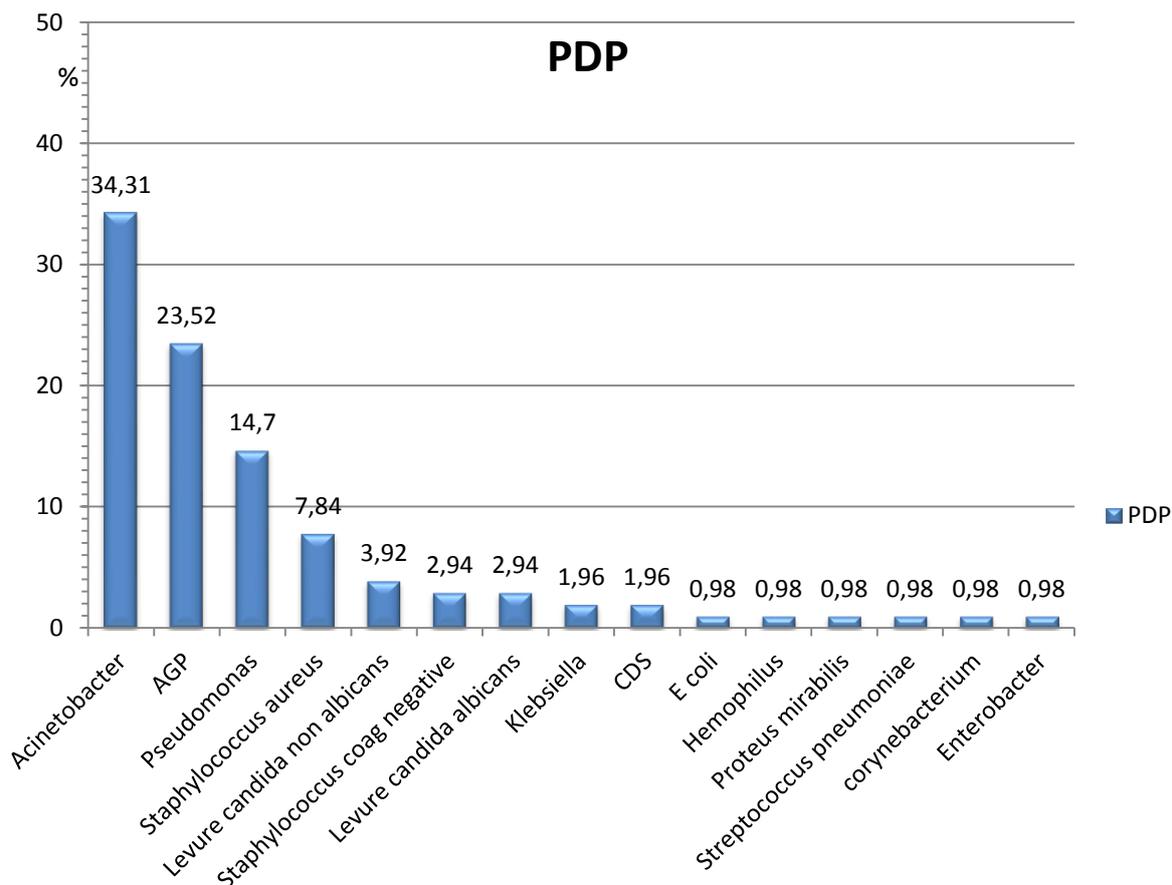


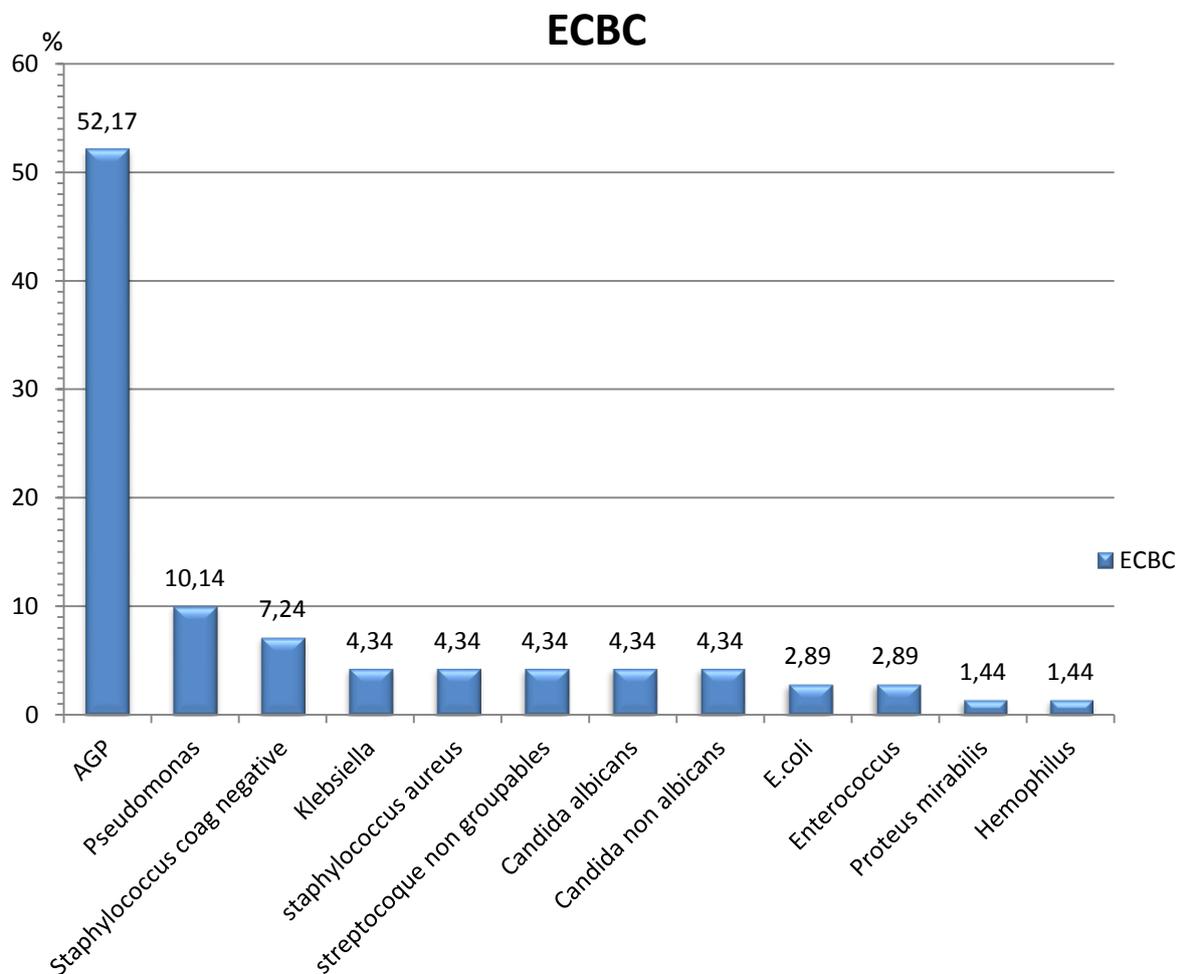
Figure 35 Répartition des espèces bactériennes isolées des PDP, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

I-5-2 Les Examen cyto bactériologiques du crachat ECBC :

Les examens cyto bactériologiques du crachat, en général, ne révèlent pas de germes pathogènes néanmoins on y détecte principalement des *Pseudomonas aeruginosa* et des *Staphylococcus aureus*. (Tab.13, Fig.36)

**Tableau 13 : Les espèces bactériennes isolées dans les ECBC, laboratoire de microbiologie
HMIM V- Rabat 2009-2010**

Bactéries	Pourcentage
AGP	52,17
<i>Pseudomonas</i>	10,14
<i>Staphylococcus</i> coag négative	7,24
<i>Klebsiella</i>	4,34
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,34
streptocoque non groupables	4,34
<i>Candida albicans</i>	4,34
<i>Candida non albicans</i>	4,34
<i>E. coli</i>	2,89
<i>Enterococcus</i>	2,89
<i>Proteus mirabilis</i>	1,44
<i>Haemophilus</i>	1,44
Total	100



**Figure 36 Répartition des espèces bactériennes dans les ECBC, lab. microbiologie HMIM V-
Rabat 2009-2010**

I-5-3 Les aspirations bronchiques AB :

Les aspirations bronchiques sont dominées par les Klebsiella. (Tab.14, Fig.37)

Tableau 14 Les espèces bactériennes isolées des AB, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

Bactéries	Pourcentage
Klebsiella	42,85
E. coli	14,28
Haemophilus	14,28
Pseudomonas	14,28
Staphylococcus aureus	14,28
Total	100

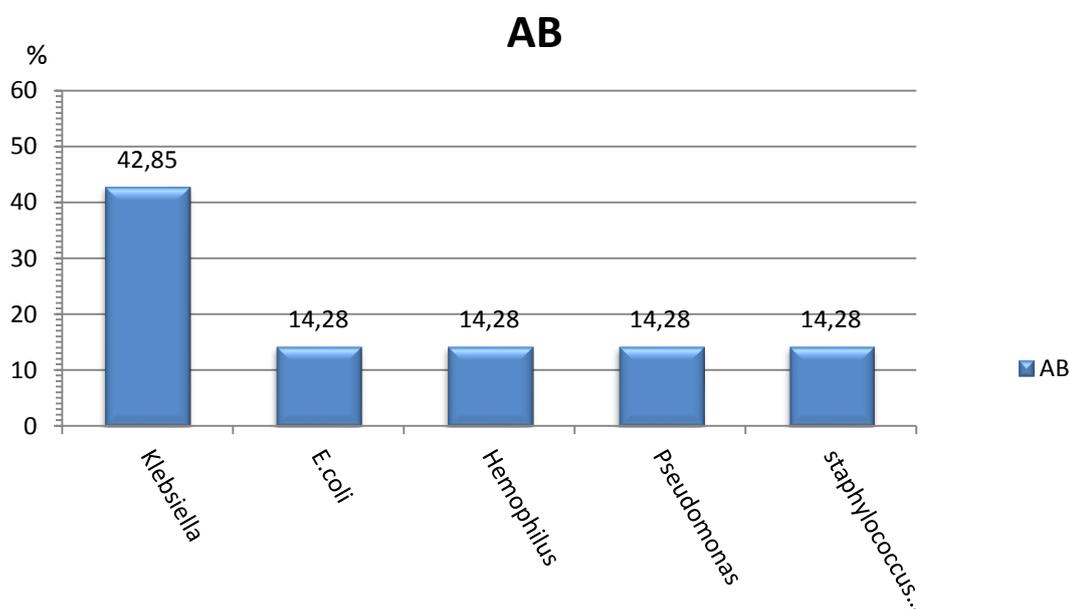


Figure 37 Répartition des espèces bactériennes dans les AB, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

I-5-4 Les liquides pleuraux LP :

Les liquides pleuraux sont en général stériles, mais en y trouve des *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. (Tab.15, Fig.38)

Tableau 15 Les espèces bactériennes des LP, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

Bactéries	Pourcentage
CDS	93,75
<i>Pseudomonas</i>	3,12
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,56
Total	100

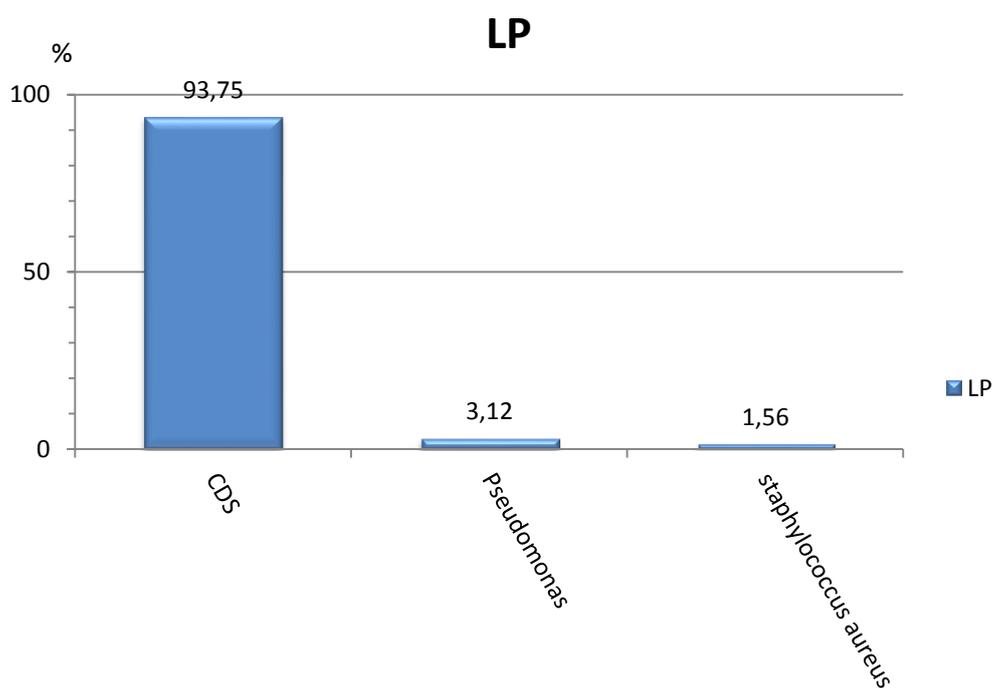


Figure 38 Répartition des espèces bactériennes dans les LP, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

I-6 Répartition des phénotypes de résistances selon les principales bactéries retrouvées :

Les principales bactéries retrouvées présentent plusieurs phénotypes de résistances : Pénicillinase, Céphalosporinase, Multirésistance, Bétalactamase a spectre élargie, Staphylocoque résistant à la méticilline, Carbapénemase, Imperméabilité, ainsi ces phénotypes sont répartis chez ces bactéries comme suite :

I-6-1 Les phénotypes de résistances de l'Acinetobacter Baumanni :

Il est principalement multirésistant (Tab.16, Fig.39) :

Tableaux 16 Phénotypes de résistance d'Acinetobacter, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

Phénotype de résistance	Pourcentage
Phénotype Multirésistants	66,66
Pénicillinase/Céphalosporinase	25,00
Céphalosporinase	8,33

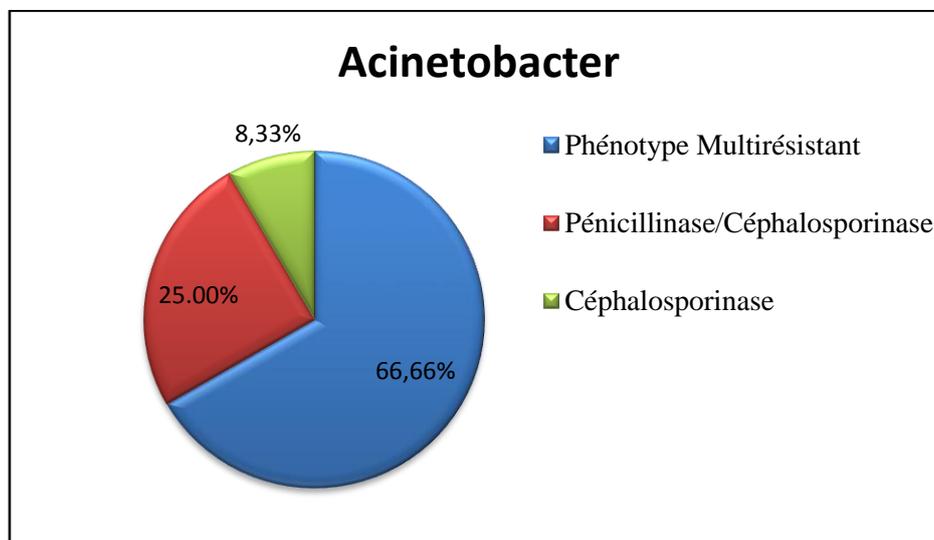


Figure 39 Les phénotypes de résistances chez Acinetobacter baumannii, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

Par ailleurs l'Acinetobacter est principalement concentré en réanimations, dans les PDP et chez des patients de plus de 40 ans. (Tab.17, Fig.40)

Tableau17 L'Acinetobacter baumannii au niveau des services, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

Services	Pourcentages d'Acinetobacter
Réanimations	22,92
Pneumologie	10,42
Externes	8,33
Centre de diagnostic	8,33
Neurologie	4,17
Urgences	4,17
Médecines	2,08
Traumatologie	2,8

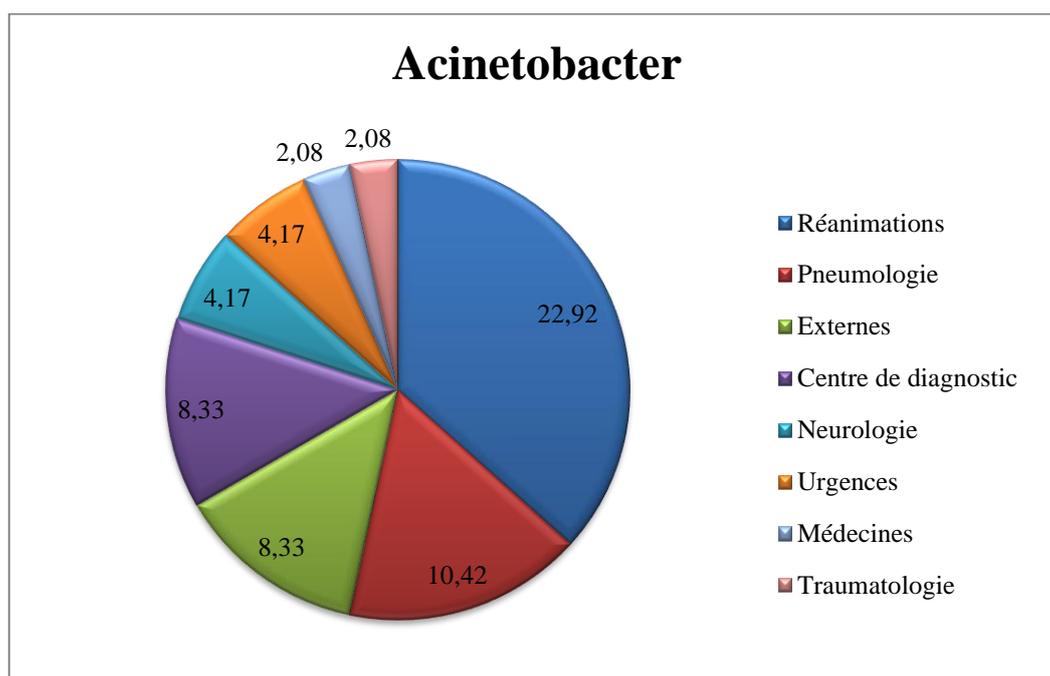


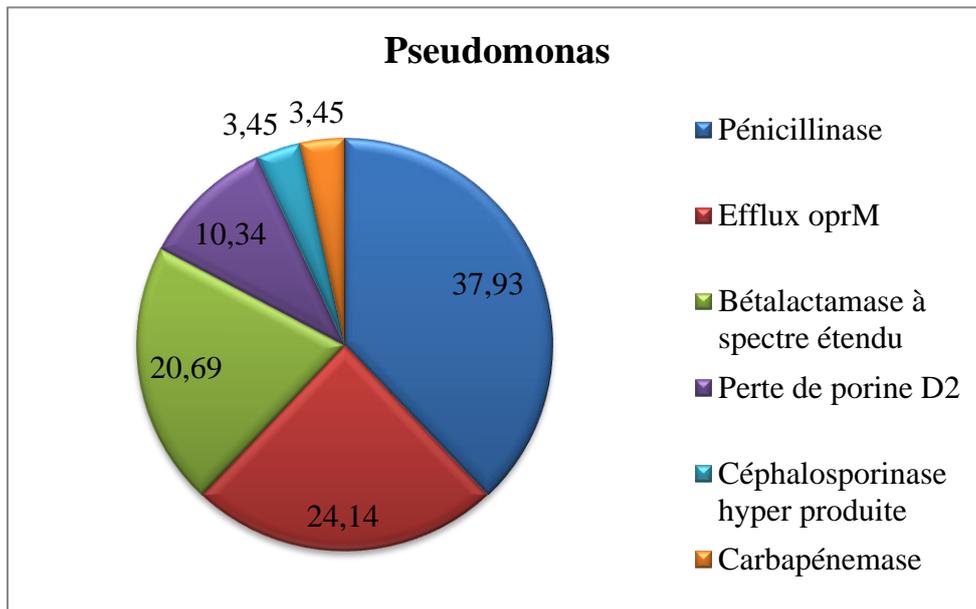
Figure 40 Répartition de l'Acinetobacter au niveau des services, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

I-6-2 Les phénotypes de résistances de Pseudomonas aeruginosa :

Le Pseudomonas est principalement concentrés dans les prélèvements distaux protégés (51,72%) provenant des patients ambulants (27,58%) et de ceux hospitalisés en pneumologie (13,79%). les phénotypes de résistance présentés par cette espèce bactériennes sont principalement: la Pénicillinase, l'Efflux oprM et la Bétalactamase à spectre étendu. (Tab.18, Fig.41).

**Tableau 18 Phénotypes de résistance de Pseudomonas aeruginosa, lab. Microbiologie
HMIMV-Rabat 2009-2010**

Phénotypes de résistance	Pourcentage
Pénicillinase	37,93
Efflux oprM	24,14
Bétalactamase à spectre étendu	20,69
Perte de porine D2	10,34
Céphalosporinase hyper produite	3,45
Carbapénemase	3,45



**Figure 41 Répartition des phénotypes de résistance chez Pseudomonas aeruginosa, lab. Microbiologie
HMIMV-Rabat 2009-2010**

I-6-3 les phénotypes de résistances du Staphylocoque aureus :

Le *Staphylococcus aureus* a été isolé dans les prélèvements distaux protégés (47,82%) et dans les examens cyto bactériologiques du crachat (34,78%), chez les consultants externes (47,82%) et ceux du centre du diagnostic (21,73%).

Il présente essentiellement une pénicillinase (92,3%) et une méticillino-résistance (7,7%). (Tab.19, Fig.42) :

Tableau 19 Phénotypes de résistance de Staphylocoques Aureus, lab. microbiologie HMIMV- Rabat 2009-2010

Phénotypes de résistance	Pourcentage
Pénicillinase	92,3
SARM*	7,7

*SARM : Staphylocoques méticillino-résistants

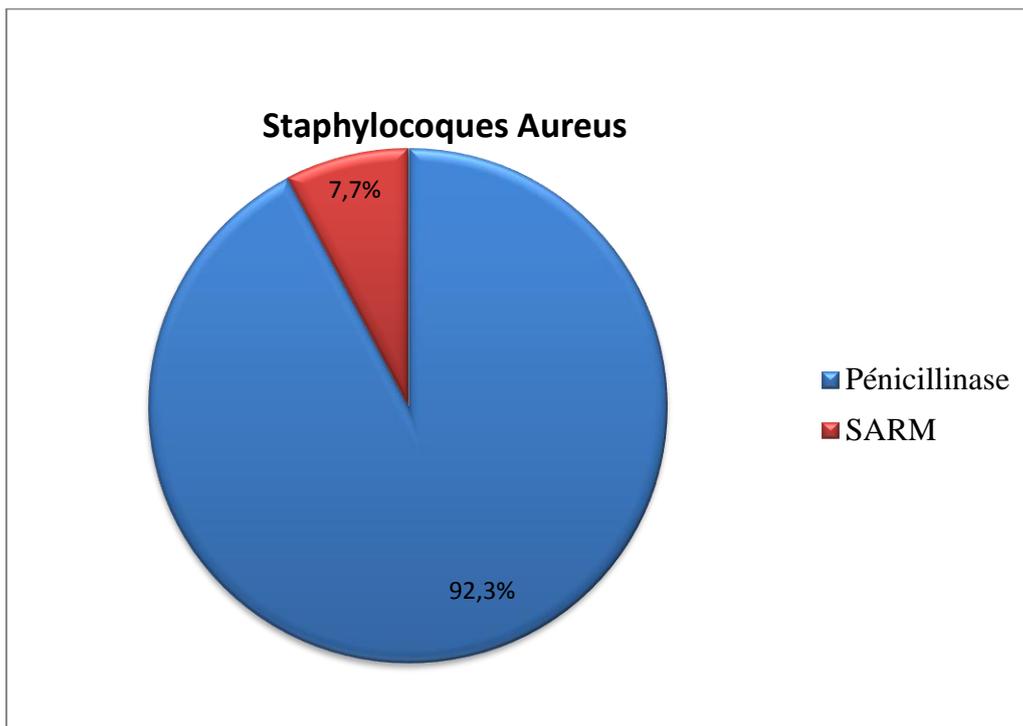


Figure 42 Les phénotypes de résistances chez Staphylocoques Aureus, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

I-6-4 les phénotypes de résistances du Klebsiella :

Klebsiella est surtout isolées **des aspirations bronchiques (25%)** chez des patients âgés, elle présente une pénicillinase de bas niveau et une bétalactamase à spectre élargi. (Tab.20, Fig.43)

Tableaux 20 Phénotypes de résistance de Klebsiella, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

Phénotypes de résistance	Pourcentage
Pénicillinase de bas niveau	41,7
BLSE	33,3
Pénicillinase de très haut niveau	25,00

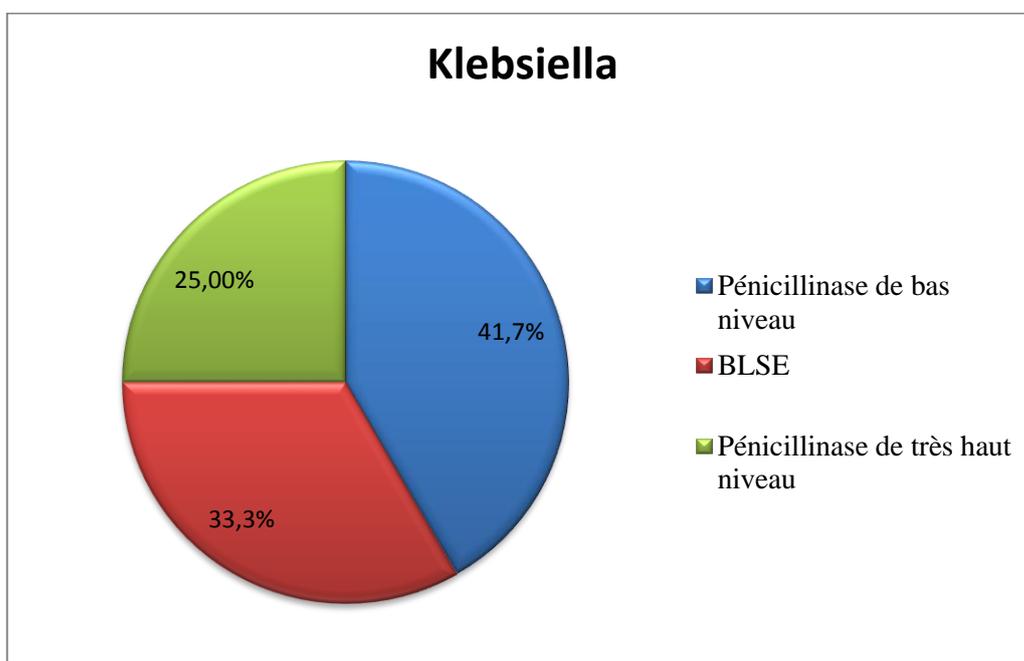


Figure 43 Les phénotypes de résistances chez Klebsiella, lab. microbiologie HMIM V- Rabat 2009-2010

Tableaux 21 : pourcentages des résistances des principales bactéries isolées des prélèvements pulmonaires, Lab.

Microbiologie, HMIMV-Rabat

Les non fermentants: Acinetobacter baumannii

Acinetobacter Baumannii (%)	Ticarcilline			Pipéracilline			Pipéracilline + Tazobactam			Ceftazidime			Amikacine			Netilmicine			Tobramycine			Ciprofloxacine		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	97,7	2,22	0	90	10	0	89,13	10,86	0	90,90	9,09	0	46,80	51,06	2,12	50	47,82	2,17	65,95	34,04	0	86,36	13,63	0
Acinetobacter Baumannii (%)	Triméthopri- me + Sulfaméthoxazol			Fosfomycine			Colistine			Rifampicine			Gentamycine 10µg			Ticarcilline + Ac. Clavulanique			Céfépime			Céfoperazone		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	92,30	7,69	0	97,43	2,56	0	0	100	0	58,06	35,48	6,45	78,26	19,56	2,17	78,94	21,05	0	96,55	3,44	0	100	0	0
Acinetobacter Baumannii (%)	Aztréonam			Imipénème			Chloramphénicol																	
	R	S	I	R	S	I	R	S	I															
	97,43	2,56	0	60,46	34,88	4,65	100	0	0															

Les non fermentants: *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas (%)	Ticarilline			Pipéracilline			Pipéracilline + Tazobactam			Ceftazidime			Cefpirome			Amikacine			Netilmicine			Tobramycine		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	58,62	34,48	6,89	55,55	40,74	3,70	17,24	82,75	0	24,13	75,86	0	38,09	61,90	0	29,64	70,37	0	55,55	40,74	3,70	24,13	75,86	0
Pseudomonas (%)	Ciprofloxacine			Triméthoprim + Sulfaméthoxazol			Fosfomycine			Colistine			Rifampicine			Gentamycine 10µg			Ticarilline + Ac. Clavulanique			Céfépime		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	36	64	0	88	12	0	47,82	52,17	0	6,66	93,33	0	82,35	17,64	0	40,74	59,25	0	55,55	44,44	0	47,61	52,38	0
Pseudomonas (%)	Aztréonam			Imipénème			Chloramphénicol																	
	R	S	I	R	S	I	R	S	I															
	37,93	62,06	0	10,34	89,65	0	85	15	0															

Les Entérobactéries: *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae (%)	Amoxicilline			Ticarcilline			Pipéracilline			Pipéracilline+Tazobactam			Ceftazidime			Amoxicilline+Ac. Clavulanique			Céfalotine			Céfotaxime		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	100	0	0	100	0	0	80	20	0	9,09	90,90	0	16,66	83,33	0	58,33	41,66	0	54,54	45,45	0	33,33	58,33	8,33
Klebsiella pneumoniae (%)	Ceftriaxone			Amikacine			Netilmicine			Tobramycine			Ciprofloxacine			Triméthopime + Sulfaméthoxazol			Fosfomycine			Colistine		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	25	75	0	0	100	0	33,33	66,66	0	33,33	58,33	8,33	10	90	0	20	80	0	0	100	0	0	100	0
Klebsiella pneumoniae (%)	Gentamycine 10µg			Ticarcilline+Ac. Clavulanique			Imipénème			Céfoxitine														
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I												
	36,36	63,63	0	50	50	0	0	100	0	0	100	0												

Les Entérobactéries: Escherichia Coli

Escherichia Coli (%)	Amoxicilline			Ticarcilline			Pipéracilline+Tazobactam			Ceftazidime			Amoxicilline+Ac. Clavulanique			Céfalotine			Céfotaxime			Amikacine		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	100	0	0	100	0	0	0	100	0	50	50	0	60	0	40	100	0	0	0	100	0	0	100	0
Escherichia Coli (%)	Netilmicine			Tobramycine			Ciprofloxacine			Triméthoprime + Sulfaméthoxazol			Fosfomycine			Colistine			Gentamycine 10µg			Imipénème		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	20	80	0	25	75	0	25	75	0	60	40	0	0	100	0	0	100	0	40	60	0	0	100	0
Escherichia Coli (%)	Céfoxitine																							
	R	S	I																					
	0	100	0																					

Les Staphylococcus : Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (%)	Kanamycine			Pénicilline G			Tobramycine			Triméthoprim + Sulfaméthoxazol			Fosfomycine			Erythromycine			Lincomycine			Tétracycline		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	18,18	81,81	0	92,85	7,14	0	7,14	92,85	0	7,69	92,30	0	0	100	0	7,14	92,85	0	0	100	0	15,38	84,61	0
Staphylococcus aureus (%)	Rifampicine			Acide Fusidique			Gentamycine 10µg			Vancomycine			Teicoplanine			Oxacilline 5µg			Chloramphénicol			Ofloxacine		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	7,14	92,85	0	7,14	92,85	0	7,14	92,85	0	0	100	0	0	100	0	7,14	92,85	0	0	100	0	9,09	90,90	0

Les Staphylococcus : Staphylococcus Coagulase négative

Staph. Coag. négative	Kanamycine			Pénicilline G			Tobramycine			Triméthoprime + Sulfaméthoxazol			Fosfomycine			Erythromycine			Lincomycine			Tétracycline		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	66,66	33,33	0	100	0	0	37,5	62,5	0	37,5	62,5	0	22,22	77,77	0	44,44	55,55	0	28,57	71,42	0	33,33	66,66	0
Staph. Coag. négative	Rifampicine			Acide fusidique			Gentamycine 10µg			Vancomycine			Teicoplanine			Oxacilline 5µg			Chloramphénicol			Ofloxacin		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
	0	100	0	50	50	0	55,55	44,44	0	0	100	0	0	100	0	44,44	55,55	0	28,57	71,42	0	37,5	62,5	0



Quatrième partie

I.DISCUSSION :

✚ Les prélèvements pulmonaires malgré leur variété, peuvent intéresser différentes catégories de patients, quelque soit leur âge et leur sexe. Ainsi notre étude rétrospective rapporte 307 prélèvements pulmonaires émanant essentiellement des consultations (27,4%) suivi des services médicaux dominés par la pneumologie 29,67%.

Ces patients sont en leur majorité du sexe masculin (63,20%) et la moyenne d'âge est de 45 ans, en pleine activité professionnelle, les âges extrêmes sont rarement cités dans la littérature.

✚ Dans la plupart des études menées dans ce sens, les infections bactériennes et surtout nosocomiales, étaient toujours dominées par les BGN en raison de la multirésistance qu'ils acquièrent au fil des années, faute d'une utilisation parfois abusive des antibiotiques. Les résultats de notre étude ne sortent pas de la règle générale et nous révèle 75,34% des BGN, 19,17% des CGP et 5,47% des BGP. Les BGN sont principalement représentés par des *Acinetobacter baumannii* (44,03%) suivi de *Pseudomonas aeruginosa* (26,60%) et *Klebsiella* (11%) ;

✚ D'autre part, le choix de la méthode des prélèvements dans les infections respiratoires basses, dépend toujours de la localisation de l'infection et du terrain du patient, ceux reçus par le laboratoire de microbiologie durant notre étude, étaient principalement des prélèvements distaux protégés (33,2%) vue leur apport diagnostique, en effet ces PDP révèlent principalement des *Acinetobacter baumannii* (34,31%), des *Pseudomonas aeruginosa* (14,7%) et des *Staphylococcus aureus* (7,84%).

✚ En général, et en incluant toutes les formes des bactéries on retrouve aussi l'*Acinetobacter baumannii* en tête avec 32,87%, *Pseudomonas aeruginosa* (19,86%), *Staphylococcus aureus* (9,58%) et *Klebsiella* (8,21%). ; L'étude menée de 2004 à 2007 au service de réanimation polyvalente de CHU Hassan II dans le cadre de la réalisation d'une Cartographie infectieuse [29], montre en générale les mêmes résultats ; et les germes pulmonaires les plus rencontrés sont : l'*Acinetobacter baumannii* en tête avec (31%), suivi de *Pseudomonas aeruginosa* (22,6%).

Une autre étude réalisée au niveau des services de réanimation des hôpitaux des armées en France [30], a révélé: *Pseudomonas aeruginosa* (28%), *Acinetobacter baumannii* (21%), *Staphylocoque aureus* (26%), *Staphylocoque à coagulase négative* (9%), *Escherichia coli* (8%). Néanmoins, au CHU de Lyon en France une étude réalisée a propos des pneumopathies nosocomiales [31] montre vers les résultats suivants: *Staphylococcus aureus* (20,4%), *Pseudomonas aeruginosa* (17,8%), *Staphylocoque à coagulase négative* (3,8%), *Acinetobacter baumannii* (0,8%).

D'autre part Michel Laure dans son étude de l'infection respiratoire au sein des établissements d'hébergement [32-39] a conclu dans son étude que les agents bactériologiques les plus fréquents dans les pneumonies sont : *Streptococcus pneumoniae* (0-40%) avec augmentation des pneumocoques à sensibilité diminuée à la pénicilline G ; les BGN (0-55%) ; *Staphylocoque Aureus* (0à39%) dont 1/3 Méti-R ; *Haemophilus influenzae type b* (0-9%)

En outre, Kollef, M.H., dans son étude sur la gestion des antibiotiques dans les pneumonies [40-42], a montré que le *Staphylocoque Aureus* est dominant (47,6%) (Dont 56,8% sont Multirésistants) suivi du *Pseudomonas Aeruginosa* (25,3%) et les autre BGN dont *Klebsiella pneumoniae* sont rencontrés dans 7,6% des cas.

Tableau 22 Récapitulatif : Comparaison des pourcentages des bactéries retrouvées dans notre étude avec les trois autres études

Bactéries isolées dans des prélèvements pulmonaires	Notre etude2009-2010 : HMIMV-Service microbiologie Rabat.	Hôpitaux des Armées France-2000	CHU-Lyon France 2006	CHU Hassan II-Fès 2007	Kollef, MH health-care-associated pneumonia 2005
<i>Acinetobacter</i>	32,87%	21%	0,8%	31%	-
<i>Pseudomonas</i>	19,86%	28%	17,8%	22,6%	25,3%
<i>Staphylococcus Aureus</i>	9,58%	26%	20,4%	-	47,6%
<i>Klebsiella</i>	8,21%	-	-	-	7,6%

✚ Depuis que les antibiotiques sont utilisés, la résistance des bactéries à ces médicaments n'a cessé d'augmenter, et crée parfois des épidémies hospitalières. En effet, les études menées dans ce contexte ont défini une variété de résistance et de multirésistance. A propos du profil de résistance des principales bactéries isolées dans nos prélèvements pulmonaires, on rencontre divers phénotypes : les pénicillinases, les pénicillinases de haut niveau, les céphalosporinases de haut niveau et les céphalosporinases naturelles inductibles. Ces phénotypes de résistance sont repartis sur les différentes bactéries comme suit :

✚ *Klebsiella pneumoniae* : Bacille à Gram négatif, immobile, capsulée, ubiquitaire, commensale du tube digestif et pathogène de l'appareil respiratoire. *Klebsiella* est naturellement résistante aux pénicillines par production de bêtalactamases inhibées par l'acide clavulanique, néanmoins elle acquit une résistance qui la rend insensible à cet acide, par production d'une bêtalactamase à spectre élargi (BLSE). Les résistances révélées dans notre étude englobent 41,7% Pénicillinases de bas niveau, 33,3% de souches BLSE et 25% pénicillinases de haut niveau ; alors qu'au CHU de CONSTANTINE (ALGERIE), l'étude des marqueurs épidémiologiques des souches de *Klebsiella Pneumoniae* [43] montre 60% BLSE ; 27% Pénicillinases de bas niveau et 13% Pénicillinases de haut niveau ; et au CHU de REIMS- hôpital Robert DEBRE (France), l'étude de la résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* [44], a révélée 95,45% *Klebsiella Pneumoniae* BLSE.

✚ *Pseudomonas aeruginosa* : le bacille à Gram négatif, mobile, ubiquitaire et opportuniste, non fermentant, proliférant dans les milieux humides tel l'appareil respiratoire supérieure. Possède des résistances naturelles à de nombreux antibiotiques en raison de la production d'une bêtalactamase chromosomique inductible, qui n'est pas inhibée par le clavulanate et qui hydrolyse préférentiellement les céphalosporines de première génération, en plus des résistances acquises lié à des mutations conduisant à une hyperexpression de la bêtalactamase chromosomique, et à une diminution de la perméabilité membranaire.

Les phénotypes de résistances de *Pseudomonas aeruginosa* sont déterminés selon le tableau suivant [82] :

Tableau 23 : Phénotypes de résistance aux bêtalactamines chez *Pseudomonas aeruginosa*

Phénotypes Antibiotiques	Pénicillinase	Céphalosporinase hyperproduite	BLSE	Carbapénemase	Efflux Opr M	Perte de porine D2
Ticarcilline (TIC)	R	R	R	R	I	S
Pipéracilline/ Tazobactam	I/S	R	S	R	S	S
Ceftazidime (CAZ)	S	I/R	R	R	S	S
Céfépime (FEP)	S	I	R	R	I/S	S
Imipénème (IMP)	S	S	S	R	S	R

Dans notre étude, cette bactérie a présenté une pénicillinase (37,93%), un mécanisme d'efflux OprM (24,14%), une Bêtalactamase à spectre étendu (20,69%), un mécanisme de résistance par perte de porine D2 (10,34), une Céphalosporinase hyperproduite et une Carbapénemase (3,45) ; Jean-Didier CAVALLO dans son étude menée au niveau de 15 CHU à Saint-Mandé en France, "Pseudomonas et antibiotiques" [46], a trouvé une évolution du phénotype Céphalosporinase entre 1998 et 2004 de 10% à 14,5% et la pénicillinase 12,1% entre 1994 et 1995. La résistance à l'imipénème était entre 1994-1995, 13,9%. D'autre part une étude menée par J.-D.CAVALLO, R. F., E.Garrabé et al. en 2003 à propos des marqueurs de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* [45], rapporte sur 2098 souche de *Pseudomonas aeruginosa*, les catégories de résistance suivantes : 15% à résistance non enzymatique ; 7% bêtalactamase non transférable et 20% Céphalosporinase hyper produite +/- bêtalactamase transférable.

✚ Acinetobacter Baumanni: Coco bacille à Gram négatif immobile, présent dans l'environnement, opportuniste et isolé essentiellement dans des unités de soins intensifs chez des patients présentant une immunodéficienc e locale ou générale puisqu'il a un faible pouvoir pathogène, c'est un signe de mal propreté d'un service. Les souches d'Acinetobacter produisent une bêtalactamase chromosomique, qui n'est pas inhibée par le clavulanate, et hydrolyse préférentiellement les céphalosporines de première génération mais n'a pas d'activité pour les pénicillines et la pipéracilline. De ce fait, Acinetobacter est naturellement résistant à la céphalotine alors que la ticarcilline reste active.

Or il peut acquérir des résistances par la production simultanée d'enzymes différentes : Céphalosporinase chromosomique, pénicillinase, résistance à l'imipenème qui peut être enzymatique ou par modifications des protéines liants les pénicillines (PLPs) qui entraînent une diminution de leur affinité pour l'imipenème.

Les mécanismes de résistances de l'*Acinetobacter baumannii* sont déterminés selon le schéma suivant :

Tableau 24 : Schéma de détermination des mécanismes des résistances d'*Acinetobacter*

	Phénotypes de Resistance	Mécanismes de Resistance
Sensible à : Ticarcilline, Sulbactam, Pipéracilline, C3G, Imipenème.	Phénotype Sensible ou groupe I	Producteur à bas niveau d'une Céphalosporinase (<5% des souches hospitalier)
Sensible à : C3G, Imipenème	Pénicillinase ou groupe II	Producteur d'une pénicillinase plasmidique (TEM, CARB...) (~4% des souches)
Sensible à : Ticarcilline, Sulbactam, Pipéracilline+Tazobactam, Imipenème	Céphalosporinase ou groupe III	Producteur d'une Céphalosporinase (~35% des souches)
Sensible à : Imipenème	Pénicillinase/Céphalosporinase ou groupe IV	Accumulation de pénicillinase plasmidique (TEM, CARB) et de Céphalosporinase hyper produite (38% à 40% des souches)
Non sensible à aucun des antibiotiques précédemment cités.	Multirésistant ou groupe V	Accumulation de mécanisme de résistance (Phénotype IV + Résistance à l'Imipenème) (<5% des souches-bouffées épidémiques)

NB : Un phénotype de résistance multiple sans production de Bétalactamase peut être observé, Il est difficilement distinguable du phénotype IV et correspond à un mécanisme d'imperméabilité. [47-68]

Dans notre étude, parmi les espèces retrouvées, l'*Acinetobacter baumannii* avait le plus fort pourcentage, et était isolé en totalité dans les PDP, ainsi cette bactérie présentait 66,66% Phénotype Multirésistant, 25% Pénicilline/Céphalosporinase et 8,33% du phénotype Céphalosporinase. Selon la littérature, au niveau hospitalier, plus de 5% des souches d'*Acinetobacter baumannii* sont multirésistantes, et apparaissent en bouffées épidémiques, 38% à 40% ont un phénotype Pénicilline/Céphalosporinase et presque 35% Céphalosporinase.

La résistance aux principaux antibiotiques testés marque une évolution par rapport à une étude menée aussi à l'HMIMV-Rabat en 2002 concernant la résistance d'*Acinetobacter baumannii* [83], et le tableau suivant illustre cette évolution :

Tableau 25 : Evolution de la résistance d'*Acinetobacter baumannii* au sein de l'HMIMV-Rabat

	HMIMV-Rabat 2003	HMIMV-Rabat 2009-2010
Ticarcilline	72,3%	97,7%
Pipéracilline	78,7%	90%
Pipéracilline + Tazobactam	52,7%	83,13%
Céfépime	60%	96,55%
Ceftazidime	63,3%	90,90%
Imipénème	23,8%	60,46%

Cette résistance évolutive d'*Acinetobacter baumannii* à ces antibiotiques, rend le test de ces derniers inutile.

Néanmoins, quelques antibiotiques, principalement la colistine et les aminosides, restent sensibles malgré la multirésistance de cette bactérie :

- La Colistine sensible dans 100 % des cas
- La Netilmicine et l'Amikacine 43,75%
- La Tobramycine 28,12%
- La Gentamicine 15,62% ; et la Rifampicine 18,75%.

II. LIMITE DE L'ETUDE :

Durant la période de notre étude au service de microbiologie de l'HMIMV de Rabat, quelque facteurs étaient défavorables pour le bon déroulement de l'étude comme le manque des données au niveau du labo serveur : âges et sexes des patients, les services et essentiellement les renseignements cliniques, mais en générale en a eu suffisamment de données pour mener cette étude.

Au niveau des services et principalement la pneumologie, en a constaté que certains prélèvements réalisés au lit des patients, ne rependaient pas aux exigences et aux règles de prélèvements pour éviter toutes sortes de contamination, et on cite ici l'exemple frappant de la négligence de l'hygiène buccale avant le prélèvement du crachat du matin pour l'examen cyto bactériologique, ce qui se répercute sur l'isolement des germes pathogènes des commensaux.

III. RECOMMANDATIONS :

L'émergence des nouvelles résistances bactériennes au sein des établissements de soin, est devenue préoccupante. Le choix de l'antibiotique efficace est devenu difficile, voire impossible dans certaines infections à bactéries totalement résistantes.

D'autre part, le nombre des antibiotiques mis à disposition, est de plus en plus limité ces dernières années, d'autant plus la multirésistance et la gravité des infections amènent à prescrire largement les quelque molécules encore actives, souvent les plus récentes et/ou de spectre étendu.

La prescription des antibiotiques doit prendre en compte, non seulement l'effet recherche sur l'infection des malades traités, mais aussi sur l'écologie bactérienne. Il est ainsi essentiel de retarder l'apparition et/ou l'extension des résistances bactériennes, et de préserver le plus longtemps possibles l'activité des antibiotiques.

En outre, s'ajoute l'antibiothérapie probabiliste qui précède la détermination du germe ou de germes responsables pathogène, ce qui peut masquer la réalité de l'infection d'une part et accentuer la résistance d'autre part, de plus l'examen direct en urgence prend au maximum 30 minutes pour au moins orienter la prescription médicale en attendant les 48 heures de la culture, la détermination et l'antibiogramme.

Face aux résultats obtenus dans notre étude, on recommande les points suivants :

- ✧ Mettre le point sur les bonnes pratiques d'hygiène hospitalière, et surtout dans les unités de soin intensifs, dans un cadre de formation continue du personnel médical et surtout infirmier.
- ✧ Minimiser les gestes invasifs du poumon, et préconiser les prélèvements distaux protégés qui sont les pourvoyeurs des bactéries réellement pathogènes. Si d'autres moyens de prélèvements sont prescrits, une hygiène de la bouche et un respect des règles de prélèvements sont fortement recommandés. Par la suite tous les prélèvements doivent parvenir le plus vite possible au laboratoire.
- ✧ Dans notre étude la l'Acinetobacter baumannii, qui est un pathogène commensale, a pris la grande part au sein des bactéries colligées, et avec une multirésistance préoccupante, ce qui impose plus de vigilance et d'hygiène au lit du malade, surtout les immunodéprimés en réanimations.
- ✧ Eviter les intubations et réintubations répétées qui augmentent le risque de Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM). La ventilation non invasive est un outil intéressant pour éviter la ventilation mécanique chez des patients en détresse respiratoire, Il faut préférer l'intubation oro-trachéale avec sonde gastrique par voie buccale plutôt que l'intubation naso-trachéale, ou les sondes nasogastriques afin de prévenir les sinusites nosocomiales avec risque de PAVM accru.

- ✧ Les infections respiratoires basses sont essentiellement dues aux bactéries à Gram négatif. La croissance bactérienne est maximale au niveau pharyngé, et non au niveau gastrique [69]. Ainsi, les bactéries responsables des PAVM sont essentiellement trouvées dans la sphère oro-pharyngés [70]. La décontamination pharyngée a donc un rôle dans la prévention des PAVM. Une infusion continue de topiques antiseptiques dans l'oropharynx réduit l'incidence des PAVM [71,72]. Toutefois, aucune différence en termes de durée de ventilation mécanique (VM) ou de mortalité n'est obtenue par ce procédé [73].

A côté de la désinfection locale, une antibiothérapie systémique par céfuroxime administrée sur une courte durée réduit le nombre de PAVM [74].

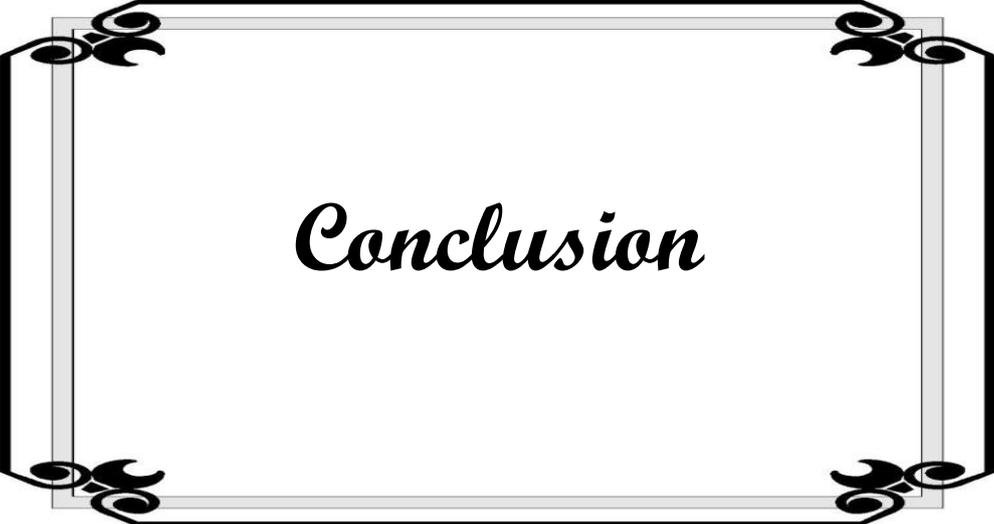
Cette double antibiothérapie, systémique et locale, associée aux règles d'hygiène et à la restriction d'antibiotiques ; diminuent de près de 20% les infections totales chez les traumatisés et les patients comateux avec intubation trachéale. [75-76].

Il est également démontré que les topiques seuls ne sont pas plus efficaces que l'antibiothérapie systémique [77,78]. L'impact écologique est très variable selon les études, ceci dépend essentiellement de la pression de sélection de l'unité de réanimation.

Cette éducation est fondamentale et nécessite des rappels constants et une évaluation régulière des performances. Ces démarches améliorent l'adhésion du personnel et diminuent de plus de 50 % le taux de pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM). [79, 80,81]

- ✧ La mise en place de tout traitement antibiotique probabiliste avant le prélèvement bactériologique est à éviter pour bien cerner l'agent pathogène d'une part et rationaliser l'utilisation des antibiotiques en milieu hospitalier d'autre part.

En effet, une technique diagnostique n'a de sens que si elle est intégrée dans une stratégie globale de prise en charge diagnostique et thérapeutique des infections communautaires et nosocomiales.



Conclusion

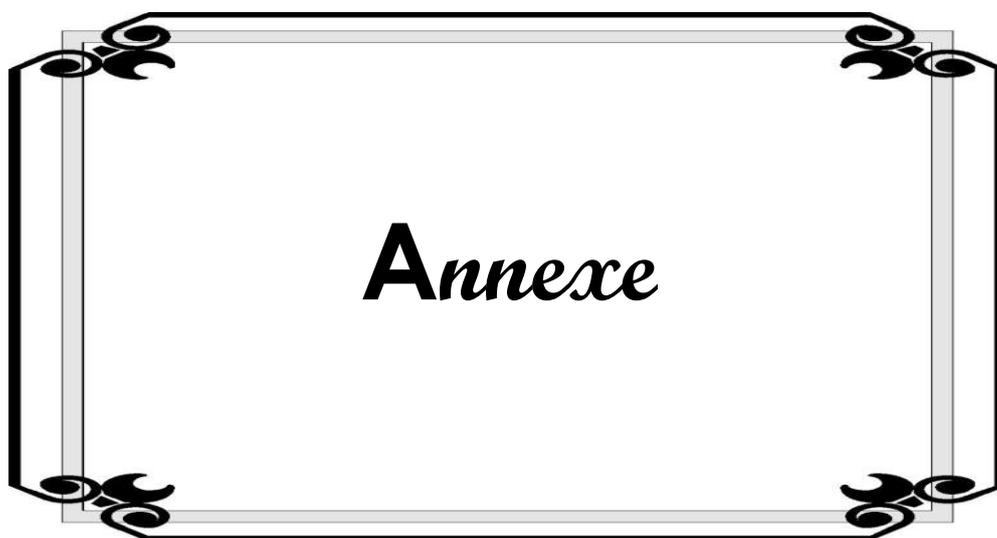
La présente étude a été menée au laboratoire de microbiologie-bactériologie de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed-V RABAT, durant l'année 2009-2010 et nous avons comme objectif la détermination de la sensibilité des différentes bactéries pathogènes des prélèvements pulmonaires, en étudiant leur comportement vis-à-vis des antibiotiques utilisés, dans le but de rationaliser l'utilisation des antibiotiques au niveau hospitalier, et par la suite prévenir les résistances et la sélection des germes les plus résistants.

Notre étude a rapporté 307 cas dont plus de patients hospitalisés qu'externes et plus de prélèvements distaux protégés que les autres prélèvements.

Ces prélèvements ont révélé principalement des BGN dominés par l'*Acinetobacter Baumannii*, un pathogène opportuniste qui émerge ces dernières décennies comme agent d'infections nosocomiales, ubiquitaire ayant pour principaux habitats le sol, les eaux, les végétaux, la peau saine de l'homme et des animaux. Ces caractéristiques en font un agent d'infections nosocomiales, de prédilection particulièrement chez les sujets débilisés hospitalisés en soins intensifs ou en chirurgie, et un pathogène multirésistant.

Cette multirésistance pose de nombreuses difficultés de traitement lors d'infections nosocomiales. De plus, outre une élévation du taux de mortalité, elle provoque, des surcoûts résultants d'une augmentation des durées d'hospitalisations et des frais thérapeutiques, de la réalisation de nombreuses analyses bactériologiques, et une éventuelle fermeture de chambres de malades, voire des services entiers et des frais liés au nettoyage et à la désinfection.

En guise de conclusion, une bonne hygiène, une désinfection des services surtout des soins intensifs et des formations périodiques pour le personnel de santé sont fortement recommandés pour venir au bout des infections pulmonaires et surtout nosocomiales.



1/Examen cyto bactériologique du Crachat et aspiration trachéobronchique :

Cet examen des sécrétions broncho-pulmonaires est d'accès facile dans les pneumopathies communautaires.

Cet examen a une valeur informative à condition que le recueil soit de bonne qualité.

1 ➔ Macroscopie : salivaire, purulent, hémorragique

2 ➔ L'examen microscopique-Gram- : la technique suivante, décrite par Bartlett et adaptée par Murray et Washington, permet d'apprécier le degré de contamination par la salive. Elle consiste à examiner un frottis coloré par la méthode de Gram au microscope à grossissement x 100 (objectif x 10) et à dénombrer en faisant une moyenne sur 10 champs les cellules épithéliales et les leucocytes par champ (après vérification de la morphologie à un grossissement plus fort).

Les résultats de l'examen microscopique permettent de distinguer 4 classes de crachats.

Tableau 26: Classification des crachats (Bartlett, Murray et Washington) en fonction du degré de contamination par la salive

Classes	Cellules par champ		Aspect au gram	Résultats
	Epithéliales	leucocytes		
1	>25	<25	quelque soit le résultat au Gram	Fort contamination buccale ne permettant pas une interprétation objective de l'examen
2	<25	<25	Flore bactérienne polymorphe	Forte contamination buccale ne permettant pas une interprétation objective de l'examen
3	<25	<25	Flore polymorphe	Ensemencer
4	<25	>25	Quelque soit le résultat au gram	Ensemencer

La présence de macrophages alvéolaires et/ou de cellules bronchiques est le témoin de l'origine basse des sécrétions.

Les crachats de classe 1 et 2 sont fortement contaminés par la salive. Ils ne sont pas utilisables pour la culture. Un autre prélèvement est à demander.

Les crachats de classe 3 ont un nombre de leucocytes qui témoignent d'une réaction inflammatoire mais sont contaminés par la salive.

Les crachats de classe 4 sont les plus appropriés pour l'examen bactériologique. Ceux de classe 3 sont acceptables.

Exception : Réanimation, Oncologie, Hémato-clinique, Transplantation, CCV :
Notez les types bactériens et préciser les abondances.

Préciser l'abondance des polynucléaires neutrophiles (carte de germes).

3 ➔ Culture : (systématique pour les services cites ci-dessus)

A pratiquer rapidement après fluidification.

a/ traitement mucolytique :

Traiter par <<mucomyst >> volume a volume. Agiter au vortex pendant 2 mn. Laisser à l'étuve à 37°c pendant 10 mn, à température ambiante pendant 30 mn. Centrifuger 5mn à 300tr/mn. Travailler sur le culot.

b/ culture quantitative :

Faire une dilution en eau distillée à partir du produit traité par digesteur. Reprendre 10µl dans 10ml (dilution 10⁻³)

c/ isolement :

→Ensemencer en étoile pour la numération 10µl du prélèvement pur et de la dilution 10⁻³, sur gélose au chocolat. On obtient ainsi sur la boîte des dilutions finales 10⁻² et 10⁻⁵

→Ensemencer en cadran sur :

- gélose au sang + Optochine + Bacitracine
- gélose au sang cuit polyvitex à incuber sous 10% de CO₂ à 37°c

- gélose BCP
- Sabouraud chloramphénicol, si présence de levures à l'état frais.
- Sheadler pour anaérobies.

4 ➔ **lecture**

- à 24h les milieux incubés en aérobie
- à 48h les milieux incubés en anaérobie et de la gélose Sheadler.
- seuil de signification est de 10^7 UFC/ml c'est-à-dire 50 sur la boîte 10^3 .

5 ➔ **Examen particuliers :**

A pratiquer sur demande du clinicien ou de biologiste

- a- Mycobactéries : à partir du culot traité par le digesteur (auramine-Ziel, après décontamination ensemencer 1 loewenstein-jensen et 1 colestos).
- b- Légionnelles : à partir du culot traité par le digesteur,
- c- Ensemencer 2 milieux BCYE (avec et sans inhibiteur). Incuber en garre avec bougie (2,5% CO₂) à 37°C.

2/ **Examen cyto bactériologique du lavage broncho alvéolaire :**

1 ➔ Examen macroscopique : clair, purulent, hémorragique.

2 ➔ Vortexer pour homogénéiser.

3 ➔ Ensemencement :

- Fluidifier comme pour le crachat si le prélèvement est trop épais.
- Ensemencement en étoile 10µl sur gélose au sang cuit polyvitex, pour la numérisation.
- Ensemencement en quadrant :
 - gélose au sang + Optochine + Bacitracine (à poser au niveau du 2^{ème} quadrant)
 - gélose au sang cuit polyvitex à incuber sous CO₂ à 37°C.
 - gélose Mac- conKey ou BCP

En fonction du contexte clinique et de l'examen direct, ensemercer :

- Sabouraud chloramphénicol,
- Sheadler pour anaérobies,
- Gélose BCYE pour légionelles.
- Milieu de Lowenstein-Jensen.

●Exploitation :

- Examiner les milieux ensemençés à 24h et à 48h. Ne répondre stérile qu'après 48heures d'incubation.
- Quantification à partir de la gélose chocolat polyvitex.
- Un dénombrement des germes supérieur à 10³/ml est considéré comme significatif d'une pneumopathie.
- Chercher dans les autres boites les bactéries pathogènes spécifiques (Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Klebsiella pneumoniae...)
- Réaliser alors l'antibiogramme de la bactérie isolée et identifiée.

4↪Examen microscopique :

- Numération sur cellule de Malassez les cellules, rendre le résultat : éléments/ml
- Centrifuger 30 à 40 ml de liquide dans un tube conique stérile à 500tr/mn pendant 10mn, et réaliser 3 frottis à partir du culot.

Gram :-observer la flore bactérienne, son abondance et sa morphologie.

- MGG : établir la formule leucocytaire

Autres coloration sur demande du clinicien : Ziel-Nelssen...

- Réaliser le bleu si nécessaire.

3/ Examen cyto bactériologique du PDP :

A- Examen Macroscopique :

Pour chaque PDP, on examine à l'œil nu le prélèvement afin de déterminer l'aspect : Salivaire, Purulent, Hémorragique.

B- Examen Microscopique :

B-1 Etat Frais :

Cette examen permet de :

- Compter les cellules épithéliales (rares, nombreux, tapis)
- Compter les leucocytes (rares, nombreux, tapis)
- Présence d'autres cellules (Bronchiques, ou Alvéolaires)

La lecture se fait entre lame et lamelle à l'objectif ($\times 40$), à partir d'une parcelle purulente, ou à partir du mucus.

B-2 Coloration de Gram :

Un frottis réalisé à partir d'une parcelle purulente ou à partir du mucus sera coloré et examiné avec l'objectif à immersion ($\times 100$). On note la présence et la quantité des éléments suivants : des cocci, des bacilles, et des coccobacilles.

B-3 Coloration au bleu de méthylène :

Le frottis correctement fixé à partir d'une parcelle purulente ou à partir du mucus, sera colorée au bleu de méthylène et examiné avec l'objectif à immersion ($\times 100$). Et on note la présence des lymphocytes et des polynucléaires neutrophiles (PNN) en pourcentage (%).

C- Cytologie / Hématimétrie :

La cytologie consiste à dénombrer les leucocytes et les hématies présents dans les PDP, et à exprimer leur nombre (d'éléments/ mm^3), on utilise, pour le dénombrement, des hématimètres (de Thoma, ou de Malassez) encore appelés hémocytomètres ou cellules. Il en existe une grande variété, et le choix d'une cellule déterminée plutôt que d'une autre, dépend le plus souvent des habitudes de l'utilisateur.

D- Cultures :

D-1 Milieux :

Les milieux utilisés pour le dénombrement sont :

- Gélose au Sang + Optochine + Bacitracine,
- Gélose au Chocolat polyvitex,
- Milieu Sabouraud chloramphénicol.
 - Gélose au sang : Milieu nutritif, non sélectif pour une grande variété de bactéries à gram positif et négatif peu exigeantes.
 - Gélose au Chocolat polyvitex : Gélose au sang cuit. Les hématies sont lysées et libèrent des facteurs de croissance (X et V) des *Haemophilus et des Neisseria*.
 - Milieu Sabouraud chloramphénicol : Milieu sélectif des levures.
 - Optochine : c'est un disque d'antibiotique auquel *Pneumocoque* est sensible (Exp : *S. pneumoniae*).
 - Bacitracine : C'est un disque d'antibiotique auquel *Streptocoque* est sensible (Exp : *S. pyogenes*).

D-2 Ensemencement :

On réalise des différents types d'ensemencement des milieux gélosés sur boîte de Pétrie à partir du prélèvement :

* Le milieu chocolat ensemencé en étoile à l'aide de l'anse à calibre 10µl pour faciliter le comptage des colonies.



**Figure 44 : Ensemencement en étoile sur gélose au sang, lab. Microbiologie
HMIM V Rabat 2009-2010**

* Gélose au sang : l'ensemencement se fait en cadrant avec une anse calibrée (10 µl) et les disques d'Optochine et Bacitracine sont mis dans le 2^{ème} cadre.



**Figure 45 Ensemencement en cadrant sur milieu chocolat lab. microbiologie
HMIM V Rabat 2009-2010**

* Milieu Sabouraud chloramphénicol est ensemencé par épuisement avec une anse calibrée (10 µl), afin d'obtenir des colonies distinctes et suffisamment éloignées.

D-3 Incubation :

L'incubation des milieux chocolat et sang se fait à l'étuve (atmosphère aérobie) 37°C (+/- 0,2°C) avec présence de 12% de CO₂, pendant (18 à 24 heures). Et pour milieu Sabouraud chloramphénicol l'incubation se fait à l'étuve 30°C (+/- 0,2°C), pendant (18 à 24 heures).

E- Identification :

E-1 L'aspect des colonies :

A l'œil nu, on détermine l'aspect des colonies et les caractères morphologiques (la forme, la couleur, la taille, l'odeur, etc.) à partir des boîtes de petrie.

E-2 Coloration de gram

Les colonies isolées sont colorées par le Gram :

Si le résultat est:

- **Bacille Gram (-) :** Un test d'oxydase suivit d'un ensemencement d'une galerie classique (et/ou galerie Api 20NE ou Api 20E)

➤ **Cocci Gram (+) : Un test de catalase**

- Si la catalase (+) : On observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses, par la suite on effectue un test de coagulase, un repiquage sur milieu Chapman, et un repiquage sur milieu Dnase,
- Si la catalase (-) : on procède à une identification sérologique, suivie d'une galerie Api Strep.

E-3 Galerie Classique :

- Milieu Kligler Hajna : Utilisation des sucres : Glucose et Lactose
- Milieu Citrate-Simmons : Utilisation du citrate comme source de carbone
- Milieu Eau peptonée : Dégradation des protéines
- Milieu Clark et Lubs : Détermination du type fermentaire (Test de VP, Test de RM)
- Milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate.
- Milieu VF (Viande-Foie) : Détermination du type respiratoire
- Milieu de Falkow : Recherche des décarboxylases,(LDC)
- Milieu Urée-Indole : Recherche l'uréase, l'indole, et TDA
- Recherche de l'ONPG-hydrolase

E-4 Galerie Api (Appareillage et Procédés d'Identification):

- Api 20E (Entérobactéries)
- Api 20NE (Non Entérobactéries)
- Api 20 Staph (Staphylocoques) et Api 20 Strep (Streptocoques)



Résumés

Résumé

Thèse n° 84 : Le profil de sensibilité des principales bactéries isolées dans les prélèvements pulmonaires essentiellement les prélèvements distaux protégés à l'exception des mycobactéries

Auteur : Meryam Zanzoul

Mots clés : Bactéries-profil de sensibilité-prélèvements distaux protégé-HMIMV-Rabat

Les infections respiratoires basses bactériennes, fait l'objet de nombreuses directives de l'OMS, ces infections demeurent la première cause de mortalité dans le monde.

Le diagnostic bactériologique requiert une analyse rigoureuse par le choix des techniques utilisées éclipsant la flore commensale des voies aériennes et surmontant l'antibiothérapie probabiliste. La présente étude, menée au laboratoire de microbiologie de l'HMIMV-RABAT avait comme objectifs :

- ❖ Identifier les bactéries pathogènes et les différencier des bactéries commensales dans les prélèvements pulmonaires à l'exception des mycobactéries ;
- ❖ Étudier la sensibilité des principales bactéries isolées aux antibiotiques testés ;
- ❖ Rationaliser l'utilisation des antibiotiques.

La présente étude est descriptive, rétrospective durant l'année 2009-2010 incluant tout les prélèvements pulmonaires essentiellement les Prélèvements Distaux Protégés des patient hospitalisés et externes à l'exceptions d'autres prélèvements. Nous avons collecté les données à partie du LABO-SERVEUR et traité par le logiciel SPSS 18 (Statistical Package for Social Sciences).

307 prélèvements ont été recueillis, principalement : 33, 2% des PDP, 22,5% des ECBC et 21,2% des Liquides pleuraux ;

Les bactéries étaient réparties en 75,34%, BGN, 19,17% CGP et 5,47% BGP ; les BGN sont principalement des *Acinetobacter Baumannii* à 44,03% révélé dans les PDP et venant des réanimations avec 66,66% multirésistant.

Les résistances des autres bactéries étaient dominées en général par le phénotype pénicillinase 22,4% et pénicillinase de haut niveau 11,8%

Le laboratoire de microbiologie de l'HMIMV-RABAT arrive très bien à déterminer les profils de sensibilités qui guident la thérapie, mais restent l'émergence de nouvelles résistances fautes des traitements probabilistes ou de la défaillance d'hygiène au lit du malade.

Summary

Thesis n° 84: The sensitivity profile of the main bacteria isolated from lung samples essentially protected distal samples with the exception of mycobacteria

Auteur: Meryam Zanzoul

Key words: Bacteria-sensitivity profile-protected distal samples HMIMV-Rabat

Low breathing bacterial infections, had been the subject of many WHO guidelines, these infections remain the leading cause of death worldwide.

Bacteriological diagnosis requires a careful analysis which can be done by using techniques eclipsing the commensal flora of the airways and overcoming probabilistic antibiotic therapy.

This study, brought to the microbiology laboratory of Rabat HMIMV, had the following objectives:

- ❖ To identify the place of the pathogenic bacteria and differentiate them from commensal bacteria in the lung samples with the exception of mycobacteria,
- ❖ To study the susceptibility of the main isolated bacteria on the tested antibiotic
- ❖ To rationalize the use of antibiotics.

This is a descriptive, retrospective study conducted during the year 2009-2010, which included all lung samples; essentially the Distal Protected Samples of inpatient and outpatient excluding other samples.

We collected data from the LAB-SERVER and processed them with the SPSS 18 software (Statistical Package for Social Sciences).

307 samples were collected, mainly: 33.2% of DPS, 22.5% of studies of cytobacteriological sputum and pleural fluid 21.2,

The bacteria were divided into 75.34% BGN, 19.17% CGP and 5,47% BGP; the BGN are mainly *Acinetobacter baumannii* with 44.03%, found in the DPS and emanating from intensive care units with 66.66% multi-resistant.

The resistance of other bacteria was dominated in general by the phenotype penicillinase, penicillinase 22.4%, and 11.8% of high-level cephalosporinase followed by high-level inducible natural cephalosporinase 10.5%.

The microbiology laboratory HMIMV-Rabat comes to determine very well the susceptibility patterns which guide the therapy, but remain the emergence of new resistance in the absence of probabilistic treatment or failure of hygiene in patient's bed.

ملخص

أطروحة رقم 84: حساسية البكتيرية الرئيسية المعزولة من العينات الرئوية، خاصة العينات القاصية المحمية، باستثناء المتفطرات

المؤلف : مريم زنزول

الكلمات الرئيسية البكتيريا، الحساسية، العينات القاصية المحمية، بالمستشفى العسكري محمد الخامس - الرباط

شكلت أمراض الجهاز التنفسي السفلى خاصة الجرثومية منها موضوع العديد من توجيهات المنظمة العالمية للصحة و تظل هذه الأمراض أول سبب للوفيات في العالم.

يتطلب التشخيص الجرثومي تحليلاً دقيقاً عن طريق اختيار التقنيات المستخدمة لإخفاء النبيت المطعم للقنوات الهوائية وتجاوز المعالجة بالصادات الاحتمالية المأخوذة في الوسط الاستشفائي أو في السيري.

كانت لهذه الدراسة التي أجزت في مختبر علم الأحياء المجهرية بالمستشفى العسكري محمد الخامس - الرباط، الأهداف التالية:

- ❖ تحديد البكتيريا الممرضة وتمييزها عن البكتيريا المطعمة في العينات الرئوية باستثناء المتفطرات؛
- ❖ دراسة حساسية البكتيريا الرئيسية المعزولة عن المضادات الحيوية المختبرة؛
- ❖ عقلنة استخدام المضادات الحيوية في الوسط الاستشفائي.

يتعلق الأمر بدراسة وصفية وذات أثر رجعي خلال سنة 2009-2010، تشمل جميع العينات الرئوية، خاصة العينات القاصية المحمية للمرضى الداخليين والخارجيين باستثناء العينات الأخرى المتعلقة بأعضاء أخرى.

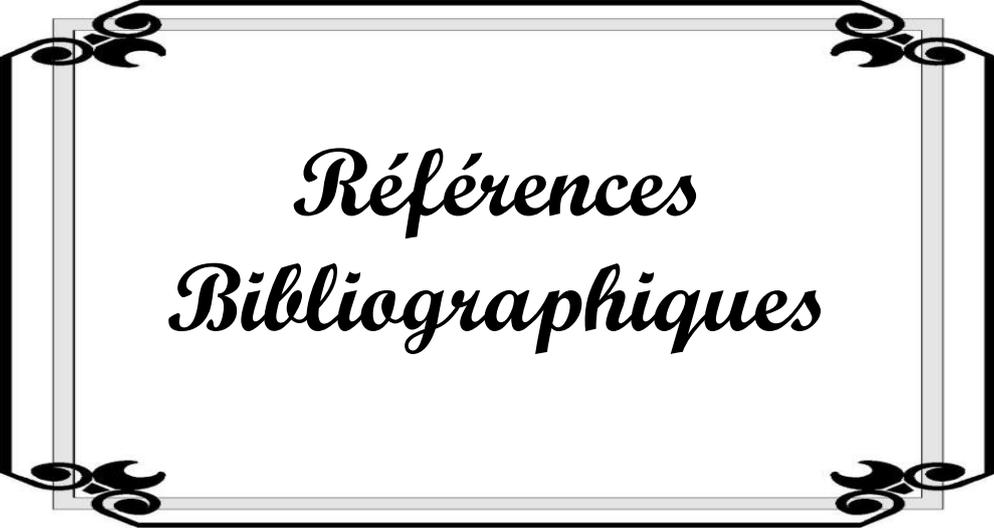
لقد قمنا بجمع المعطيات من "لابو سيرفور" وعالجناها بواسطة برنامج الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية 18.

تم أخذ 307 عينة خاصة: 33.2% من العينات القاصية المحمية، 22.5% من الدراسات الخلوية الجرثومية للقشع، 21.2% من السوائل الجنبية؛

كانت البكتيريا مقسمة إلى 75.34% بكتيريا سلبية الغرام، 19.17% مكورات إيجابية الغرام، 5.47% بكتيريا إيجابية الغرام؛ تتشكل أساساً من الراكدة البومانية بنسبة 44.03% تظهر بشكل رئيسي في القاصية المحمية والقادمة من أقسام الإنعاش مع مقاومة متعددة في 66.66% من الحالات.

عموماً تمت السيطرة على البكتيريا الأخرى من طرف بينيسيليناز النمط الظاهري بنسبة 22.4% وبينيسيليناز عالي المستوى بنسبة 11.8% يليهما السيفالوسبوريناز عالي المستوى والسيفالوسبوريناز الطبيعي المحرض.

وقد استطاع مختبر علم الأحياء المجهرية بالمستشفى العسكري محمد الخامس - الرباط تحديد أنماط الحساسية التي ترشد علاج الطبيب، لكن يبقى احتمال ظهور مقاومات جديدة في غياب معالجات محتملة أو في غياب نظافة سرير المريض.



*Références
Bibliographiques*

- [1] **Corley DE, K. S., Winterbauer RH, Hammar SP, Dail DH, Bauermeister DE, et al.** (1997). "Reproducibility of the histologic diagnosis of pneumonia among a panel of four pathologists: analysis of a gold standard. *Chest* "112: 458-65.
- Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française. Prise en charge des infections des voies respiratoires basses de l'adulte immunocompétent. 15e Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse, Paris, 2006.
- [2] **Abele-Horn, M., A. Dauber, A. Bauernfeind, W. Russwurm, I. Seyfarth-Metzger, P. Gleich, and G. Ruckdeschel.** (1997). Decrease in nosocomial pneumonia in ventilated patients by selective oropharyngeal decontamination (SOD). *Intensive Care Med.* 23:187–195.
- [3] **Baker, A. M., J. W. Meredith, and E. F. Haponik.** 1996. Pneumonia in intubated trauma patients. *Microbiology and outcomes. Am. J. Respir. Crit.Care Med.* 153:343–349.
- [4] **Blot, F., B. Raynard, E. Chachaty, C. Tancrede, S. Antoun, and G. Nitenberg.** (2000). Value of gram stain examination of lower respiratory tract secretions for early diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162:1731–1737.
- [5] **C. Faisy, J.-L. M., J.-Y. Fagon.** (2008). "Techniques des prélèvements Microbiologiques." Elsevier Masson SAS. Cook DJ, F. J., Guyatt GH, Walter S. (1991). "Evaluation of the protected brush catheter and bronchoalveolar lavage in the diagnosis of nosocomial pneumonia." *J Intensive Care Med* 6: 196-205.
- [6] **American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America** (2005): **Guidelines** for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med,* 171:388-416.
- [7] **Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ** (1999): Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest,* 115:462-474.

- [8] http://santechezvous.com/condition_info_details.asp?disease_id=192,1996-2010
MediResource.
- [9] <http://imedecin.com/Article298.htm>
- [10] 10. RÉMIC 2004 - 10• Examen cyto bactériologique des sécrétions broncho-pulmonaires
- [11] Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Prélèvements microbiologiques Page 2/2 Mai 2004 CCLIN Sud-est. SOCIETE FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE. Le Rémic : Référentiel en microbiologie médicale (Bactériologie et mycologie). Ed. 2M2. <http://www.2m2.fr/ouvrage/remic.htm>.
- E. Pilly (2002). "Maladies Infectieuses et Tropicales." ASSOCIATION DES PROFESSEURS DE PATHOLOGIES INFECTIEUSES ET TROPICALES. Ed. 2M2 18ème édition, 654.
- [12] Dr.G.Maler (2005). "Protocole aspiration bronchique."
- [13] **Cours** - Pneumologie - L'aspiration bronchiques Jeudi, 09 Avril 2009 14:04 - Mis à jour Mardi, 14 Avril 2009 12:31
- [14] Lavage broncho-alvéolaire. (2011, septembre 4). *Wikipédia, l'encyclopédie libre*. Page consultée le 18:41, septembre 21, 2011 à partir de http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Lavage_broncho-alv%C3%A9olaire&oldid=69216146.
- [15] CHU du Kremlin-Bicêtre, Département d'Anesthésie-Réanimation 2008
Hôpital de Bicêtre Département d'Anesthésie-Réanimation.
- Pham LA, B.-B. C., Legrand P et al. (1991). "Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients." Comparison of a plugged telescopic catheter with the protected specimen brush. *Am Rev Resp* **143**: 1055-61.

- [16] **Pham LH, B.-B. C., Legrand P, Rauss A, Verra F, Brochard L, et al.** (1991). "Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. Comparison of a plugged telescoping catheter with the protected specimen brush." *Am Rev Respir* **143**: 1055-61.
- [17] **.Rouby JJ, R. M., Nicolas MH, Martin de Lassale E, Cristin S, Grosset J, et al.** (1989). "A prospective study of protected bronchoalveolar lavage in the diagnosis of nosocomial pneumonia." *Anesthesiology* **71**: 679-85.
- [18] **Ohanson WG, Jr, Pierce AK, Sanford JP, Thomas GD.** (1972). Nosocomial respiratory infections with gram-negative bacilli. The significance of colonization of the respiratory tract. *Ann Intern Med.* **77** (5):701-706.
- [19] **Ourdain B, Novara A, Joly-Guillou ML, Dombret MC, Calvat S, Trouillet JL, Gibert C, Chastre J.** (1995). Role of quantitative cultures of endotracheal aspirates in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* Jul; **152**(1):241-246.
- [20] **Kahn FW, Jones JM.** (1987). Diagnosing bacterial respiratory infection by bronchoalveolar lavage. *J Infect Dis.* May; **155**(5):862-869.
- [21] **Pham LA, B.-B. C., Legrand P et al.** (1991). "Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. Comparison of a plugged telescopic catheter with the protected specimen brush." *Am Rev Respir* **143**: 1055-61.
- [22] **Professeur A. PHILIPPON et Dr. L. PROTS** (Faculté de Médecine COCHIN-PORT-ROYAL, PARIS V) <http://www.microbe-edu.org/etudiant/diag1.html>
- [23] **DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION BACTERIENNE II** (<http://www.microbe-edu.org/etudiant/diag2.html>)
- [24] **Professeur A. PHILIPPON et le Dr. L. PROTS** (Faculté de Médecine COCHIN-PORT-ROYAL, Université PARIS V)
- [25] *Pedagogie.ac-montpellier.fr/.../LA_GALERIE_Api20e.PPT*

- [26] Communiqué du comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie, (Edition de Janvier 2009).
- [27] Cours de bacteriologie: *Anne Decoster. Jean-Claud Lemahieu & Dr Eric Dehecq, Pr Marc Duhamel* sur le cite : <http://anne.decoster.free.fr/atb/resab.htm>
- [28] <http://pedagogie.ac-montpellier.fr/> Disciplines/sti/biotechn/documents/ATB_Phenotype_resistance_enterobacteries_B_lactamines.pdf
- [29] Cartographie infectieuse en milieu de réanimation, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté de médecine et de pharmacie de Fès
- [30] **Garrabé, J. D. C., p.Brisou et al.** (2000). "Sensibilité aux antibiotiques des bactéries d'infections nosocomiales : évolution dans les services de réanimation des hôpitaux des armées." *La Presse médicale* 29 ; n°27: 1497-1503.
- Cartographie infectieuse en milieu de réanimation, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté de médecine et de pharmacie de Fès.
- [31] **M.Giard, A. L., B.Allaouchiche et al.** (2006). "Comparaison des facteurs de risque et pronostic des pneumopathies nosocomiales précoces et tardives acquises en réanimation." *Hygiènes XIV* n°4: 257-265.
- Cartographie infectieuse en milieu de réanimation, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté de médecine et de pharmacie de Fès
- [32] **Mlle Michel Laure** (2010). Infections respiratoires aiguës basse acquises en EHPAD : Epidémiologie et prise en charge diagnostique et thérapeutique. Thèse pour le doctorat en médecine, Diplôme d'état par. Université Paris Descartes (Paris5) Faculté de médecine Paris Descartes.
- [33] **SPILF**, (2006), Prise en charge des infections des voies respiratoires basses de l'adulte immunocompétent. *Medicine et maladies infectieuses*. 36(235-244).
- [34] (CSHPF), C.s.d.h.p.d.f., (18 novembre 2005). Guide des conduits à tenir devant une ou plusieurs infections respiratoires aiguës basses dans les collectivités de personnes âgées. http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/infections_persagees/circ_489.pd,

- [35] **Chen, J. H., et al.** (2006). "Occurrence and treatment of suspected pneumonia in long-term care residents living with advanced dementia." *J Am Geriatr Soc* 54(9): 290-5.
- [36] **Mc Geer, A., et al.** (1991). "Definition of infection for surveillance in long-term care facilities." *Am J Infect Control* 19(1): 1-7.
- [37] **Fine, M. J., et al.** (1997). "A prediction rule to identify low-risk patient with community-acquired pneumonia." *N Engl J Med* 336(4): 243-50.
- [38] **Wipf, J. E., et al.** (1999). "Diagnosing pneumonia by physical examination: relevant or relic?" *Arch intern Med* 159(10): 1082-7.
- [39] **Marrie, T. J.** (2002). "Pneumonia in the long-term-care facility." *Infect control hosp Epidemiol* 23(3): 159-64.
- [40] **Kollef, M. H.** (2005). "Epidemiology and outcomes of health-care-associated pneumonia: results from a large US database of culture-positive pneumonia." *Chest* 128(6): 3854-62.
- [41] **Kollef MH, Ward S.** (1998). The influence of mini-BAL cultures on patient outcomes: implications for the antibiotic management of ventilator-associated pneumonia. *Chest*; 113:412-20.
- [42] **M.Giard, A. L., B.Allaouchiche et al** (2006). "Comparaison des facteurs de risque et pronostic des pneumopathies nosocomiales précoces et tardives acquises en réanimation." *Hygiène XIV ; n°4*: 257-265.
- [43] **al. S. e.** (2010). "Marqueurs épidémiologiques des souches de *Klebsiella Pneumoniae* subsp *Pneumoniae* Isolées au CHU de Constantine (Alergies)." *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* 4, N°1: 82-98.

- [44] **Alima Gharout¹, A. A. T., Janick Madoux², Lucien Brasme², Christophe and D. C. e. S. Benallaoua¹.** (2007-2008). "étude de la résistance des souche de Klebsiella pneumoniae aux céphalosporines de troisième génération isolées dans le région de Bejaia".
- 1 : Laboratoire de Microbiologie Appliquée, Faculté des Sciences de la Vie et de la Nature, Université A. Mira de Béjaia.
- 2 : Laboratoire de bactériologie de bactériologie-virologie-hygiène hospitalière, CHU de REIMS- hôpital Robert DEBRE (France).E-mail: gharoutalima@gmail.com
- [45] **J.-D.Cavallo, R. F., E.Garrabé et al.** (2003). "Wich betalactam antibiotic use as a marker of multiresistance in P.aeruginosa?" Patol Biol 51: 460-463.
- Cartographie infectieuse en milieu de reanimation, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah faculté de médecine et de pharmacie de Fès.
- [46] **Saint-Mandé, J.-D. C. H. B.-.** "Pseudomonas aeruginosa et antibiotiques."
- [47] **Holton,j.** 1983 A note on the preparation and use of a selective differential medium for isolation of acinetobacter spp. From clinical specimen.J.Appl.Bact.54:141-142.
- [48] **Hogg.G.M.,J.G.Barr,and C.H. Barr, and C.H. Webb.**1998.In Vitro activity of the combination of colistne and rifampicine against multidrug-resistant Strains of Acinetobacter baumannii. J.Antimicrob. chemother. 41:494-495.
- [49] **Woese.C.R., Weisbug, C. M. Hahm, R.J. Paster, I.R. Zablen, B.J. Lewis, T-J. Make, W. Ludwing, and E. Stac** 1985. The phylogeny of purple bacteria: the gamme subdivides J.Appl. Microbiol. 6:25-33.
- [50] **Tankovie.J., P.Legrand, G.de Gatines, V.Chemineau, C.Brun-Buisson, and J. Dual.** 1994. Characterisation of hospital outbreak of imipenem resistant Acinetobacter Baumannii by phenotypie and genotype typing method, J.Clin, Microbiol. 32:2677-2681.

- [51] **Vila. J., J.Ruiz, P.Gni, A.Macros, and T. Jimenez de Asta.** 1995. Mutation in the gut Agene of Quinolone-Resistant Clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agent chemother.* 39:1201-1203.
- [52] **Joly-Guillon, M.I., and Bergogne-Berezin.** 1992. In vitro activity of sparflloxacin, pefloxacin, ciprofloxacin and temafloxacin against clinical strains of *Acinetobacter* Spp. *J. Antimicrob. Chemother.* 29: 466-468.
- [53] **Marques. M.B., E.S. Brookings, S.A. Moser, P.B. Sonbe, and K.B. Waiters.** 1997, comparative in vitro antimicrobial succceptibilite
- [54] **Perrez.A.N.,I.G. Bonet, E.H. robledo, R. D. Abascal, and C. V. Plous.** 1996. Metallo- β -Lactamase in *Acinetobacter baumannii*, *Med.Science Res.*24:315-317
- [55] **Perreli. M., A. Felici, A. Oratore, G. cornaglia, G. Bonfiglin, G. M. Kossolini, and G. Amicosante.** 1996. Characterization of the céphalosporinases prodiced by *Acinetobacter lwoffii* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates *Antimicrob Agent chemither.* 40:715-719.
- [56] **Scaiffe. W., H.K. Young, R.H. Paton, and S. G. Amyes.** 1995. Transferable imipenem resistance in *Acinetobacter* Species from a clinical source. *J. Antimicrob chemother* 39:585-586.
- [57] **Lortholary. O., J.Y. Fagnon, A. Bou-Hoi, M. A. Slames J. Perm.** I Nosocomial acquisqtion of multiresistant *Acinetobacter baumannii* rik factore and prognosic. *Clin Infect. Dis.* 20: 790-796.
- [58] **Brown. S., C. Bantar, H.K.Young. And S.G. Amyes.** Limitation of *Acinetobacter baumannii* treatement by plasmid-serial carbapenemase ARI-2. *Lancet.* 351:186-187.
- [59] **Gerthein. M., H. Lying, W.Cullman, S.Wendt, and W.opferkuch.** 1991. Imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* is due to altered penicillin-binding proteins. *Chemother.* 37:405-412.
- [60] **Cruze. J.A., J.T. Singer, and W.R. Finnerty.**1979. Condition for quantitative Transformation in *Acinetobacter* *Curt. Microbiol.* 3: 129-132.
- [61] **Perrez, A.N., I.G.Bonet, E.H.Robledo, R.D.Aascal, and C.V.Plous.** 1996. Metallo- β -Lactamases in *Acinetobacter baumannii*. *Med.science Res.* 24:315-317.

- [62] **Hood.J., and S.G.R. Amyes.** 1989. A novel method for identification and distinction of the beta-lactamases of the genus *Acinetobacter*. *JAppl. Bacteriol.* 67:157-163.
- [63] **Joly-Guillon., M.L, et E. Bergogne-Berezin.** 1990. Présence d'une bêta-lactamase à spectre élargie chez *Acinetobacter Baumannii*. *Press. Med* 19: 672-673.
- [64] **Vila. J. M. Navia, J. Ruiz and C.Casals.** 1997. Cloning and nucleotide sequence analysis of a gene encoding an oxa-derived beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agent chemother* 41: 2757-2759.
- [65] **Joly-Guillon, M.L.**1997. *Acinetobacter baumannii*; sensibilité actuelle aux antibiotiques. Mécanisme de résistance. Fréquence. *La lettre de l'Infectiologue* 9 :399-404.
- [66] **Jiménez-Mejas, M.E., J.Pachon. B.Becerril, J.Palomino-Nicas, A. Rodriguez-Cobacho, and M. Revuelta.** 1997. Treatment of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis with ampicillin-sulbactam, *clin. Infect. Dis.* 24: 232-935.
- [67] **Joly-Guillou, M.I., D. Decré. J.I., Herrman, E. Bourdelier, and I. Bergogne-Berezin.** 1995. Bacterial in-vitro activity of β -lactamase inhibitors, alone or associated, against clinical serum of *Acinetobacter baumannii*: effect of combination with aminoglycosides. *J. Antimicrob, chemother.* 36: 619-629.
- [68] **Bonting. C.F.C., R.M.F. W. Akkerman-vork. P.J.M. Bouvet, G.J.J. Kortstec, and A.J.B.Zehnder.** Additional characteristics of the polyphosphate-accumulating *Acinetobacter* strain 210A and its identification as *Acinetobacter baumannii* FEMS *Microbiology Ecology.*102:5764.
- [69] **Ewig S, Torres A, El-Ebiary M, Fábregas N, Hernández C, González J, et al.** Bacterial colonization patterns in mechanically ventilated patients with traumatic and medical head injury. Incidence, risk factors, and association with ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 188-198.
- [70] **Garrouste-Orgeas M, Chevret S, Arlet G, Marie O, Rouveau M, Popoff N, et al.** (1997) Oropharyngeal or gastric colonization and nosocomial pneumonia in adult intensive care unit patients. A prospective study based on genomic DNA analysis. *Am J Respir Crit Care Med*; 156: 1647-1655.

- [71] **Pneumatikos I, Koulouras V, Nathanail C, Goe D, Nakos G.** (2002) Selective decontamination of subglottic area in mechanically ventilated patients with multiple trauma. Intensive Care Med; 28: 432-437.
- [72] **Seguin P, Tanguy M, Laviolle B, Tirel O, Mallédant Y.** (2006) Effect of oropharyngeal decontamination by povidone-iodine on ventilator-associated pneumonia in patients with head trauma. Crit Care Med; 34: 1514-1519.
- [73] **Chan EY, Ruest A, Meade MO, Cook DJ.** (2007) Oral decontamination for prevention of pneumonia in mechanically ventilated adults: systematic review and meta-analysis. BMJ; 334: 889.
- [74] **Sirvent JM, Torres A, El-Ebiary M, Castro P, de Batlle J, Bonet A.** (1997) Protective effect of intravenously administered cefuroxime against nosocomial pneumonia in patients with structural coma. Am J Respir Crit Care Med; 155: 1729-1734.
- [75] **Textoris J, Leone M, Boyle WA, Martin C.** (2005) Selective digestive decontamination: the light as changed from red to green. Ann Fr Anesth Reanim; 24: 366-376.
- [76] **Stoutenbeek CP, van Saene HK, Miranda DR, Zandstra DF, Binnendijk B.** (1984) The prevention of superinfection in multiple trauma patients. J Antimicrob Chemother; 14 Suppl B: 203-211.
- [77] **Liberati A.** (1994) Selective decontamination of the digestive tract. BMJ; 308(6925): 410-411.
- [78] **Brazzi L, Liberati A, Torri V, Langer M** (1991). Selective decontamination of digestive tract. Lancet; 338(8779): 1389-1390.
- [79] **Drs Sandrine Wiramus,** Marc Leone Service d'anesthésie et de réanimation, hôpital Nord, Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille, Université de la Méditerranée, Marseille
- [80] **Bouadma L, Mourvillier B, Deiler V, Le Corre B, Lolom I, Régnier B, et al.** (2010) A multifaceted program to prevent ventilator-associated pneumonia: impact on compliance with preventive measures. Crit Care Med; 38: 789-796.
- [81] **Tolentino-DelosReyes AF, Ruppert SD, Shiao SPK.** (2007) Evidence-based practice: use of the ventilator bundle to prevent ventilator-associated pneumonia. Am J Crit Care; 16: 20-27.

- [82] **Pr.Hervé Dupont.** (2007). Infection à *Pseudomonas aeruginosa*. Pole anesthésie-Réanimation, Centre hospitalier universitaire, Amiens
- [83] **M. Elouennass,** T. Bajou, A. H. Lemnouer, V. Foissaud, V. Hervé, A.J. Baaj
Acinetobacter baumannii : étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc, Service de microbiologie, Service d'hygiène et de médecine préventive, hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد

أطروحة رقم: 84

سنة : 2011

حساسية البكتيريات الرئيسية المعزولة
من العينات الرئوية، خاصة العينات القاصية المحمية
باستثناء المتفطرات

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرفه

الآنسة : مريم زنزول

المزادة في: 18 مارس 1986 بسلا

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: بكتيريات - الحساسية للمضادات الحيوية - العينات القاصية المحمية -

المستشفى العسكري محمد الخامس - الرباط

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: ميمون زهدي

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

مشرف

السيدة: سكيئة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

السيدة: نزهة مسعودي

أستاذة مبرزة في علم الدم البيولوجي

السيد: اسماعيل عبد الرحمان غرفي

أستاذ مبرز في الأمراض الصدرية

أعضاء

}