

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2017

THESE N°: 275

LES BACTERIES MULTIREsISTANTES  
EVOLUTION DANS LE TEMPS ET DANS L'ESPACE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mr. Marouane BALOUKI

*Né le 26 Septembre 1989*

*Médecin Interne du CHU Ibn Sina de Rabat*

*De L'Ecole Royale du Service de Santé Militaire - Rabat*

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES : BMR – SARM – EPC – BLSE – Infections Nosocomiales.

JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

Mme. S. EL HAMZAoui

Professeur de Microbiologie

Mr. A. GAOUZI

Professeur de Pédiatrie

Mr. Y. SEKHSOKH

Professeur de Microbiologie

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

Mme. N. EL MESSAOUDI

Professeur d'Hématologie Biologique

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا  
إننا أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

بِسْمِ اللَّهِ  
الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT**  
**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

**DOYENS HONORAIRES :**

1962 – 1969 : Professeur 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  
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



**ADMINISTRATION :**

**Doyen** : Professeur Mohamed ADNAOUI  
**Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes**  
Professeur Mohammed AHALLAT  
**Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération**  
Professeur Taoufiq DAKKA  
**Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie**  
Professeur Jamal TAOUFIK  
**Secrétaire Général** : Mr. Mohamed KARRA

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS  
ET  
PHARMACIENS**

**PROFESSEURS :**

**Décembre 1984**

Pr. MAAOUNI Abdelaziz  
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi  
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne – **Clinique Royale**  
Anesthésie -Réanimation  
pathologie Chirurgicale

**Novembre et Décembre 1985**

Pr. BENSAID Younes

Pathologie Chirurgicale

**Janvier, Février et Décembre 1987**

Pr. CHAHED OUZZANI Houria  
Pr. LACHKAR Hassan  
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Gastro-Entérologie  
Médecine Interne  
Neurologie

**Décembre 1988**

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib  
Pr. DAFIRI Rachida

Chirurgie Pédiatrique  
Radiologie

### Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed  
Pr. CHAD Bouziane  
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – *Doyen de la FMPR*  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie

### Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid  
Pr. HACHIM Mohammed\*  
Pr. KHARBACH Aïcha  
Pr. MANSOURI Fatima  
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale  
Médecine-Interne  
Gynécologie -Obstétrique  
Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation

### Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia  
Pr. AZZOUZI Abderrahim  
Pr. BAYAHIA Rabéa  
Pr. BELKOUCHI Abdelkader  
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif  
Pr. BENSOU DA Yahia  
Pr. BERRAHO Amina  
Pr. BEZZAD Rachid  
Pr. CHABRAOUI Layachi  
Pr. CHERRAH Yahia  
Pr. CHOKAIRI Omar  
Pr. KHATTAB Mohamed  
Pr. SOULAYMANI Rachida  
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation – *Doyen de la FMPO*  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Biochimie et Chimie  
Pharmacologie  
Histologie Embryologie  
Pédiatrie  
Pharmacologie – *Dir. du Centre National PV*  
Chimie thérapeutique *V.D à la pharmacie+Dir du*  
*CEDOC*

### Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed  
Pr. BENSOU DA Adil  
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib  
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza  
Pr. CHRAIBI Chafiq  
Pr. DEHAYNI Mohamed\*  
Pr. EL OUAHABI Abdessamad  
Pr. FELLAT Rokaya  
Pr. GHAFIR Driss\*  
Pr. JIDDANE Mohamed  
Pr. TAGHY Ahmed  
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

### Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine  
Pr. BEN RAIS Nozha  
Pr. CAOUI Malika  
Pr. CHRAIBI Abdelmjid  
Pr. EL AMRANI Sabah

Radiothérapie  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques *Doyen de*  
*la FMPA*  
Gynécologie Obstétrique



Pr. EL BARDOUNI Ahmed  
Pr. EL HASSANI My Rachid  
Pr. ERROUGANI Abdelkader  
Pr. ESSAKALI Malika  
Pr. ETTAYEBI Fouad  
Pr. HADRI Larbi\*  
Pr. HASSAM Badredine  
Pr. IFRINE Lahssan  
Pr. JELTHI Ahmed  
Pr. MAHFOUD Mustapha  
Pr. RHRAB Brahim  
Pr. SENOUCI Karima

### **Mars 1994**

Pr. ABBAR Mohamed\*  
Pr. ABDELHAK M'barek  
Pr. BELAIDI Halima  
Pr. BENTAHILA Abdelali  
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali  
Pr. BERRADA Mohamed Saleh  
Pr. CHAMI Ilham  
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae  
Pr. JALIL Abdelouahed  
Pr. LAKHDAR Amina  
Pr. MOUANE Nezha

### **Mars 1995**

Pr. ABOUQUAL Redouane  
Pr. AMRAOUI Mohamed  
Pr. BAIDADA Abdelaziz  
Pr. BARGACH Samir  
Pr. CHAARI Jilali\*  
Pr. DIMOU M'barek\*  
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine\*  
Pr. EL MESNAOUI Abbes  
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
Pr. HDA Abdelhamid\*  
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia  
Pr. SEFIANI Abdelaziz  
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

### **Décembre 1996**

Pr. AMIL Touriya\*  
Pr. BELKACEM Rachid  
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim  
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan  
Pr. GAOUZI Ahmed  
Pr. MAHFOUDI M'barek\*  
Pr. OUADGHIRI Mohamed  
Pr. OUZEDDOUN Naima  
Pr. ZBIR EL Mehdi\*

Traumato-Orthopédie  
Radiologie  
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**  
Immunologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Médecine Interne  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Anatomie Pathologique  
Traumatologie – Orthopédie  
Gynécologie –Obstétrique  
Dermatologie

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

Réanimation Médicale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Cardiologie - **Directeur HMI Med V**  
Urologie  
Ophtalmologie  
Génétique  
Réanimation Médicale

Radiologie  
Chirurgie Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Radiologie  
Traumatologie-Orthopédie  
Néphrologie  
Cardiologie



### Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
Pr. BEN SLIMANE Lounis  
Pr. BIROUK Nazha  
Pr. ERREIMI Naima  
Pr. FELLAT Nadia  
Pr. HAIMEUR Charki\*  
Pr. KADDOURI Nouredine  
Pr. KOUTANI Abdellatif  
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
Pr. TAOUFIQ Jallal  
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique  
Urologie  
Neurologie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

### Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA  
Pr. BENOMAR ALI  
Pr. BOUGTAB Abdesslam  
Pr. ER RIHANI Hassan  
Pr. BENKIRANE Majid\*  
Pr. KHATOURI ALI\*

Gastro-Entérologie  
Neurologie – **Doyen de la FMP Abulcassis**  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Hématologie  
Cardiologie

### Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed\*  
Pr. AIT OUMAR Hassan  
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd  
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
Pr. EL FTOUH Mustapha  
Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
Pr. ISMAILI Hassane\*  
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
Pr. TACHINANTE Rajae  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie  
Neurochirurgie  
Traumatologie Orthopédie- **Dir. Hop. Av. Marr.**  
Anesthésie-Réanimation **Inspecteur du SSM**  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne



### Novembre 2000

\*Neurologie

### Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH\*

ORL

### Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham\*  
Pr. BENABDELJLIL Maria  
Pr. BENAMAR Loubna  
Pr. BENAMOR Jouda  
Pr. BENELBARHDADI Imane  
Pr. BENNANI Rajae

Anesthésie-Réanimation  
Neurologie  
Néphrologie  
Pneumo-phtisiologie  
Gastro-Entérologie  
Cardiologie



Pr. BENOACHANE Thami  
 Pr. BEZZA Ahmed\*  
 Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
 Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
 Pr. CHAT Latifa  
 Pr. DAALI Mustapha\*  
 Pr. DRISSE Sidi Mourad\*  
 Pr. EL HIJRI Ahmed  
 Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid  
 Pr. EL MADHI Tarik  
 Pr. EL OUNANI Mohamed  
 Pr. ETTAIR Said  
 Pr. GAZZAZ Miloudi\*  
 Pr. HRORA Abdelmalek  
 Pr. KABBAJ Saad  
 Pr. KABIRI EL Hassane\*  
 Pr. LAMRANI Moulay Omar  
 Pr. LEKEHAL Brahim  
 Pr. MAHASSIN Fattouma\*  
 Pr. MEDARHRI Jalil  
 Pr. MIKDAME Mohammed\*  
 Pr. MOHSINE Raouf  
 Pr. NOUINI Yassine  
 Pr. SABBAH Farid  
 Pr. SEFIANI Yasser  
 Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Pédiatrie  
 Rhumatologie  
 Anatomie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Chirurgie Générale  
 Radiologie  
 Anesthésie-Réanimation  
 Neuro-Chirurgie  
 Chirurgie-Pédiatrique  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**  
 Neuro-Chirurgie  
 Chirurgie Générale  
 Anesthésie-Réanimation  
 Chirurgie Thoracique  
 Traumatologie Orthopédie  
 Chirurgie Vasculaire Périphérique  
 Médecine Interne  
 Chirurgie Générale  
 Hématologie Clinique  
 Chirurgie Générale  
 Urologie **Directeur Hôpital Ibn Sina**  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Vasculaire Périphérique  
 Pédiatrie

### **Décembre 2002**

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane\*  
 Pr. AMEUR Ahmed \*  
 Pr. AMRI Rachida  
 Pr. AOURARH Aziz\*  
 Pr. BAMOU Youssef \*  
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene\*  
 Pr. BENZEKRI Laila  
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia  
 Pr. BERNOUSSI Zakiya  
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya\*  
 Pr. CHOHO Abdelkrim \*  
 Pr. CHKIRATE Bouchra  
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair  
 Pr. EL HAOURI Mohamed \*  
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
 Pr. HAJJI Zakia  
 Pr. IKEN Ali  
 Pr. JAAFAR Abdelouhab\*  
 Pr. KRIOUILE Yamina  
 Pr. LAGHMARI Mina  
 Pr. MABROUK Hfid\*

Anatomie Pathologique  
 Urologie  
 Cardiologie  
 Gastro-Entérologie  
 Biochimie-Chimie  
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
 Dermatologie  
 Gastro-Entérologie  
 Anatomie Pathologique  
 Psychiatrie  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Dermatologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Ophtalmologie  
 Urologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Pédiatrie  
 Ophtalmologie  
 Traumatologie Orthopédie

Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss\*  
Pr. OUJILAL Abdelilah  
Pr. RACHID Khalid \*  
Pr. RAISS Mohamed  
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha\*  
Pr. RHOU Hakima  
Pr. SIAH Samir \*  
Pr. THIMOU Amal  
Pr. ZENTAR Aziz\*

Gynécologie Obstétrique  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Générale  
Pneumophtisiologie  
Néphrologie  
Anesthésie Réanimation  
Pédiatrie  
Chirurgie Générale

### **Janvier 2004**

Pr. ABDELLAH El Hassan  
Pr. AMRANI Mariam  
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
Pr. BENKIRANE Ahmed\*  
Pr. BOUGHALEM Mohamed\*  
Pr. BOULAADAS Malik  
Pr. BOURAZZA Ahmed\*  
Pr. CHAGAR Belkacem\*  
Pr. CHERRADI Nadia  
Pr. EL FENNI Jamal\*  
Pr. EL HANCHI ZAKI  
Pr. EL KHORASSANI Mohamed  
Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*  
Pr. HACHI Hafid  
Pr. JABOUIRIK Fatima  
Pr. KHARMAZ Mohamed  
Pr. MOUGHIL Said  
Pr. OUBAAZ Abdelbarre\*  
Pr. TARIB Abdelilah\*  
Pr. TIJAMI Fouad  
Pr. ZARZUR Jamila

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

### **Janvier 2005**

Pr. ABBASSI Abdellah  
Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
Pr. ALLALI Fadoua  
Pr. AMAZOUZI Abdellah  
Pr. AZIZ Nouredine\*  
Pr. BAHIRI Rachid  
Pr. BARKAT Amina  
Pr. BENYASS Aatif  
Pr. BERNOUSSI Abdelghani  
Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
Pr. EL HAMZAOUI Sakina\*  
Pr. HAJJI Leila  
Pr. HESSISSEN Leila  
Pr. JIDAL Mohamed\*  
Pr. LAAROUSSI Mohamed  
Pr. LYAGOUBI Mohammed  
Pr. NIAMANE Radouane\*

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Rhumatologie  
Ophtalmologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Ophtalmologie  
Biophysique  
Microbiologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Parasitologie  
Rhumatologie



(mise en disponibilité)

Pr. RAGALA Abdelhak  
Pr. SBIHI Souad  
Pr. ZERAIDI Najja

Gynécologie Obstétrique  
Histo-Embryologie Cytogénétique  
Gynécologie Obstétrique

### Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

### Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
Pr. AKJOUJ Said\*  
Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
Pr. BENCHEIKH Razika  
Pr. BIYI Abdelhamid\*  
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
Pr. DOGHMI Nawal  
Pr. FELLAT Ibtissam  
Pr. FAROUDY Mamoun  
Pr. HARMOUCHE Hicham  
Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
Pr. IDRIS LAHLOU Amine\*  
Pr. JROUNDI Laila  
Pr. KARMOUNI Tariq  
Pr. KILI Amina  
Pr. KISRA Hassan  
Pr. KISRA Mounir  
Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
Pr. MANSOURI Hamid\*  
Pr. OUANASS Abderrazzak  
Pr. SAFI Soumaya\*  
Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
Pr. SOUALHI Mouna  
Pr. TELLAL Saida\*  
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie  
Radiologie  
Hématologie  
O.R.L  
Biophysique  
Chirurgie - Pédiatrique  
Chirurgie Cardio – Vasculaire  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Microbiologie  
Radiologie  
Urologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Pharmacie Galénique  
Parasitologie  
Radiothérapie  
Psychiatrie  
Endocrinologie  
Psychiatrie  
Pneumo – Phtisiologie  
Biochimie  
Pneumo – Phtisiologie



### Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid  
Pr. ACHACHI Leila  
Pr. ACHOUR Abdessamad\*  
Pr. AIT HOUSSA Mahdi\*  
Pr. AMHAJJI Larbi\*  
Pr. AOUI Sarra  
Pr. BAITE Abdelouahed\*  
Pr. BALOUCH Lhousaine\*  
Pr. BENZIANE Hamid\*  
Pr. BOUTIMZINE Nourdine  
Pr. CHARKAOUI Naoual\*

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie  
Chirurgie générale  
Chirurgie cardio vasculaire  
Traumatologie orthopédie  
Parasitologie  
Anesthésie réanimation **Directeur ERSM**  
Biochimie-chimie  
Pharmacie clinique  
Ophtalmologie  
Pharmacie galénique

Pr. EHIRCHIOU Abdelkader\*  
 Pr. ELABSI Mohamed  
 Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
 Pr. EL OMARI Fatima  
 Pr. GHARIB Noureddine  
 Pr. HADADI Khalid\*  
 Pr. ICHOU Mohamed\*  
 Pr. ISMAILI Nadia  
 Pr. KEBDANI Tayeb  
 Pr. LALAOUI SALIM Jaafar\*  
 Pr. LOUZI Lhoussain\*  
 Pr. MADANI Naoufel  
 Pr. MAHI Mohamed\*  
 Pr. MARC Karima  
 Pr. MASRAR Azlarab  
 Pr. MRABET Mustapha\*  
 Pr. MRANI Saad\*  
 Pr. OUZZIF Ez zohra\*  
 Pr. RABHI Monsef\*  
 Pr. RADOUANE Bouchaib\*  
 Pr. SEFFAR Myriame  
 Pr. SEKHSOKH Yessine\*  
 Pr. SIFAT Hassan\*  
 Pr. TABERKANET Mustafa\*  
 Pr. TACHFOUTI Samira  
 Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*  
 Pr. TANANE Mansour\*  
 Pr. TLIGUI Houssain  
 Pr. TOUATI Zakia

### **Décembre 2007**

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

### **Décembre 2008**

Pr ZOUBIR Mohamed\*  
 Pr TAHIRI My El Hassan\*

### **Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
 Pr. AGDR Aomar\*  
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim\*  
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia  
 Pr. AKHADDAR Ali\*  
 Pr. ALLALI Nazik  
 Pr. AMINE Bouchra  
 Pr. ARKHA Yassir  
 Pr. BELYAMANI Lahcen\*

Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Anesthésie réanimation  
 Psychiatrie  
 Chirurgie plastique et réparatrice  
 Radiothérapie  
 Oncologie médicale  
 Dermatologie  
 Radiothérapie  
 Anesthésie réanimation  
 Microbiologie  
 Réanimation médicale  
 Radiologie  
 Pneumo phtisiologie  
 Hématologique  
 Médecine préventive santé publique et hygiène  
 Virologie  
 Biochimie-chimie  
 Médecine interne  
 Radiologie  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Radiothérapie  
 Chirurgie vasculaire périphérique  
 Ophtalmologie  
 Chirurgie générale  
 Traumatologie orthopédie  
 Parasitologie  
 Cardiologie



Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation  
 Chirurgie Générale

Médecine interne  
 Pédiatre  
 Chirurgie Générale  
 Neurologie  
 Neuro-chirurgie  
 Radiologie  
 Rhumatologie  
 Neuro-chirurgie  
 Anesthésie Réanimation



Pr. BJIJOU Younes  
 Pr. BOUHSAIN Sanae\*  
 Pr. BOUI Mohammed\*  
 Pr. BOUNAIM Ahmed\*  
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*  
 Pr. CHAKOUR Mohammed \*  
 Pr. CHTATA Hassan Toufik\*  
 Pr. DOGHMI Kamal\*  
 Pr. EL MALKI Hadj Omar  
 Pr. EL OUENNASS Mostapha\*  
 Pr. ENNIBI Khalid\*  
 Pr. FATHI Khalid  
 Pr. HASSIKOU Hasna \*  
 Pr. KABBAJ Nawal  
 Pr. KABIRI Meryem  
 Pr. KARBOUBI Lamyia  
 Pr. L'KASSIMI Hachemi\*  
 Pr. LAMSAOURI Jamal\*  
 Pr. MARMADÉ Lahcen  
 Pr. MESKINI Toufik  
 Pr. MESSAOUDI Nezha \*  
 Pr. MSSROURI Rahal  
 Pr. NASSAR Ittimade  
 Pr. OUKERRAJ Latifa  
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani \*

**PROFESSEURS AGREGES :**

**Octobre 2010**

Pr. ALILOU Mustapha  
 Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
 Pr. BELAGUID Abdelaziz  
 Pr. BOUAITY Brahim\*  
 Pr. CHADLI Mariama\*  
 Pr. CHEMSI Mohamed\*  
 Pr. DAMI Abdellah\*  
 Pr. DARBI Abdellatif\*  
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
 Pr. EL HAFIDI Naima  
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*  
 Pr. EL MAZOUZ Samir  
 Pr. EL SAYEGH Hachem  
 Pr. ERRABIH Ikram  
 Pr. LAMALMI Najat  
 Pr. MOSADIK Ahlam  
 Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
 Pr. NAZIH Mouna\*  
 Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anatomie  
 Biochimie-chimie  
 Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Traumatologie orthopédique  
 Hématologie biologique  
 Chirurgie vasculaire périphérique  
 Hématologie clinique  
 Chirurgie Générale  
 Microbiologie  
 Médecine interne  
 Gynécologie obstétrique  
 Rhumatologie  
 Gastro-entérologie  
 Pédiatrie  
 Pédiatrie  
 Microbiologie ***Directeur Hôpital My Ismail***  
 Chimie Thérapeutique  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Pédiatrie  
 Hématologie biologique  
 Chirurgie Générale  
 Radiologie  
 Cardiologie  
 Pneumo-phtisiologie



Anesthésie réanimation  
 Médecine interne  
 Physiologie  
 ORL  
 Microbiologie  
 Médecine aéronautique  
 Biochimie chimie  
 Radiologie  
 Chirurgie pédiatrique  
 Pédiatrie  
 Radiologie  
 Chirurgie plastique et réparatrice  
 Urologie  
 Gastro entérologie  
 Anatomie pathologique  
 Anesthésie Réanimation  
 Chirurgie générale  
 Hématologie  
 Anatomie pathologique

## Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed  
Pr. ABOUELALAA Khalil\*  
Pr. BELAIZI Mohamed\*  
Pr. BENCHEBBA Driss\*  
Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna  
Pr. EL KHATTABI Abdessadek\*  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. ER-RAJI Mounir  
Pr. JAHID Ahmed  
Pr. MEHSSANI Jamal\*  
Pr. RAISSOUNI Maha\*

Chirurgie Pédiatrique  
Anesthésie Réanimation  
Psychiatrie  
Traumatologie Orthopédique  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Médecine Interne  
Pneumophtisiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie pathologique  
Psychiatrie  
Cardiologie

## Février 2013

Pr. AHID Samir  
Pr. AIT EL CADI Mina  
Pr. AMRANI HANCHI Laila  
Pr. AMOUR Mourad  
Pr. AWAB Almahdi  
Pr. BELAYACHI Jihane  
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain  
Pr. BENCHEKROUN Laila  
Pr. BENKIRANE Souad  
Pr. BENNANA Ahmed\*  
0.  
Pr. BENSGHIR Mustapha\*  
Pr. BENYAHIA Mohammed\*  
Pr. BOUATIA Mustapha  
Pr. BOUABID Ahmed Salim\*  
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba  
Pr. CHAIB Ali\*  
Pr. DENDANE Tarek  
Pr. DINI Nouzha\*  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa  
Pr. ELFATEMI Nizare  
Pr. EL GUERROUJ Hasnae  
Pr. EL HARTI Jaouad  
Pr. EL JOUDI Rachid\*  
Pr. EL KABABRI Maria  
Pr. EL KHANNOUSSI Basma  
Pr. EL KHLOUFI Samir  
Pr. EL KORAICHI Alae  
Pr. EN-NOUALI Hassane\*  
Pr. ERRGUIG Laila

Pharmacologie – Chimie  
Toxicologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Réanimation Médicale  
Anesthésie Réanimation  
Biochimie-Chimie  
Hématologie  
Informatique Pharmaceutique  
  
Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chimie Analytique  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie  
Cardiologie  
Réanimation Médicale  
Pédiatrie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Neuro-Chirurgie  
Médecine Nucléaire  
Chimie Thérapeutique  
Toxicologie  
Pédiatrie  
Anatomie Pathologie  
Anatomie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Physiologie



Pr. FIKRI Meryim  
Pr. GHFIR Imade  
Pr. IMANE Zineb  
Pr. IRAQI Hind  
Pr. KABBAJ Hakima  
Pr. KADIRI Mohamed\*  
Pr. LATIB Rachida  
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra  
Pr. MEDDAH Bouchra  
Pr. MELHAOUI Adyl  
Pr. MRABTI Hind  
Pr. NEJJARI Rachid  
Pr. OUBEJJA Houda  
Pr. OUKABLI Mohamed\*  
Pr. RAHALI Younes  
Pr. RATBI Ilham  
Pr. RAHMANI Mounia  
Pr. REDA Karim\*  
Pr. REGRAGUI Wafa  
Pr. RKAIN Hanan  
Pr. ROSTOM Samira  
Pr. ROUAS Lamiaa  
Pr. ROUIBAA Fedoua\*  
Pr. SALIHOUN Mouna  
Pr. SAYAH Rochde  
Pr. SEDDIK Hassan\*  
Pr. ZERHOUNI Hicham  
Pr. ZINE Ali\*

Radiologie  
Médecine Nucléaire  
Pédiatrie  
Endocrinologie et maladies métaboliques  
Microbiologie  
Psychiatrie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Pharmacologie  
Neuro-chirurgie  
Oncologie Médicale  
Pharmacognosie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie Pathologique  
Pharmacie Galénique  
Génétique  
Neurologie  
Ophtalmologie  
Neurologie  
Physiologie  
Rhumatologie  
Anatomie Pathologique  
Gastro-Entérologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Traumatologie Orthopédie

### **Avril 2013**

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim\*  
Pr. GHOUNDALE Omar\*  
Pr. ZYANI Mohammad\*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
Urologie  
Médecine Interne

*\*Enseignants Militaires*



### **MARS 2014**

ACHIR ABDELLAH  
BENCHAKROUN MOHAMMED  
BOUCHIKH MOHAMMED  
EL KABBAJ DRISS  
EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA  
HARDIZI HOUYAM  
HASSANI AMALE  
HERRAK LAILA  
JANANE ABDELLA TIF  
JEAIDI ANASS  
KOUACH JAOUAD  
LEMNOUER ABDELHAY  
MAKRAM SANAA  
OULAHYANE RACHID  
RHISSASSI MOHAMED JMFAR  
SABRY MOHAMED  
SEKKACH YOUSSEF  
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

Chirurgie Thoracique  
Traumatologie- Orthopédie  
Chirurgie Thoracique  
Néphrologie  
Biochimie-Chimie  
Histologie- Embryologie-Cytogénétique  
Pédiatrie  
Pneumologie  
Urologie  
Hématologie Biologique  
Généologie-Obstétrique  
Microbiologie  
Pharmacologie  
Chirurgie Pédiatrique  
CCV  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Généologie-Obstétrique

### **\*Enseignants Militaires**

### **DECEMBRE 2014**

ABILKACEM RACHID'  
AIT BOUGHIMA FADILA  
BEKKALI HICHAM  
BENAZZOU SALMA  
BOUABDELLAH MOUNYA  
BOUCHRIK MOURAD  
DERRAJI SOUFIANE  
DOBLALI TAOUFIK  
EL AYOUBI EL IDRISSE ALI  
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM  
EL MARJANY MOHAMMED  
FEJJAL NAWFAL  
JAHIDI MOHAMED  
LAKHAL ZOUHAIR  
OUDGHIRI NEZHA  
Rami Mohamed  
SABIR MARIA  
SBAI IDRISSE KARIM

Pédiatrie  
Médecine Légale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Maxillo-Faciale  
Biochimie-Chimie  
Parasitologie  
Pharmacie Clinique  
Microbiologie  
Anatomie  
Anesthésie-Réanimation  
Radiothérapie  
Chirurgie Réparatrice et Plastique  
O.R.L  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Psychiatrie  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

\*Enseignants Militaires



## **AOUT 2015**

Meziane meryem  
Tahri latifa

Dermatologie  
Rhumatologie

## **JANVIER 2016**

BENKABBOU AMINE  
EL ASRI FOUAD  
ERRAMI NOUREDDINE  
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale  
Ophtalmologie  
O.R.L  
O.R.L

## **2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES**

### **PROFESSEURS / PRs. HABILITES**

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootéchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 14/12/2016 par le  
Service des Ressources Humaines*





*Dédicaces*

*À*  
*FEU SA MAJESTÉ LE ROI*  
*HASSAN II*



*À*

*SA MAJESTÉ LE ROI*

*MOHAMED VI*

*Chef Suprême et Chef d'Etat-Major Général*

*des Forces Armées Royales*

*Roi du MAROC et garant de son intégrité territoriale*



*Qu'Allah le glorifie et préserve Son Royaume.*

*À*  
*SON ALTESSE ROYALE*  
*LE PRINCE HÉRITIER*  
*MOULAY EL HASSAN*



*Que Dieu le garde.*

*À*

*SON ALTESSE ROYALE*

*LE PRINCE MOULAY RACHID*



*TOUTE LA FAMILLE ROYALE*

*A*

*Monsieur le Général de Corps d'Armée*

*Abdelfattah LOUARAK*

*Inspecteur Général des FAR et Commandant de la Zone Sud*

*En témoignage de notre grand respect*

*Notre profonde considération et sincère admiration*



*A*

*Monsieur le Médecin Général de Brigade*

*Abdelkrim MAHMOUDI*

*Professeur d'Anesthésie Réanimation.*

*Inspecteur du Service de Santé des Forces Armées Royales.*

*En témoignage de notre grand respect,*

*Et notre profonde considération*

*A*

*Monsieur le Médecin Colonel Major*

*Abdelhamid HDA*

*Professeur de Cardiologie Directeur de l'HMIMV –Rabat.*

*En témoignage de notre grand respect*

*Et notre profonde considération*



*A*

*Monsieur le Médecin Colonel Major*

*Mohammed Abbar*

*Professeur d'urologie*

*Directeur de l'HMMI-Meknès.*

*En témoignant de notre grand respect*

*Et notre profonde considération*

*A*  
*Monsieur le Médecin Colonel Major*  
*Khalid SAIR*  
*Professeur de chirurgie viscérale*  
*Directeur de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech*  
*En témoignant de notre grand respect*  
*Et notre profonde considération*



*A*  
*Monsieur le Médecin Colonel Major*  
*Abdelouahed BAITE*  
*Professeur d'Anesthésie Réanimation*  
*Directeur de l'E. R. S. M*  
*En témoignage de notre grand respect*  
*Et notre profonde considération.*



*A*  
*Monsieur le Médecin Colonel*  
*BOUSNANE Abdelaziz*  
*Commandant du groupement formation et instruction*  
*ERSSM*  
*En témoignant de notre grand respect*  
*Et notre profonde considération*

*A toute ma promotion 2008 de l'ERSSM.*

*A tous mes promotionnaires de l'internat 2015.*

*Longévité, Succès, Bonheur....*

*A tous ceux et celles que j'ai omis de citer*

*Je vous dis merci.*

*A mon très cher père*

*Ce modeste travail est le fruit de  
tous sacrifices déployés pour notre éducation.  
Vous avez toujours souhaité le meilleur pour nous.  
Vous avez fournis beaucoup d'efforts aussi bien  
physiques et moraux à notre égard.  
Vous n'avez jamais cessé de nous encourager  
et de prier pour nous.  
C'est grâce à vos percepts que nous avons appris  
à compter sur nous-mêmes.  
vous méritez sans conteste qu'on vous décerne les prix  
« Père Exemplaire ».  
Père : je t'aime et j'implore le tout puissant pour  
qu'il t'accorde une bonne santé et une vie heureuse.*

*A ma très chère mère*

*Votre patience, votre bienveillance,  
votre dévouement et votre courage sont admirables.*

*Vous étiez toujours présente pour nous écouter,  
nous reconforter et nous montrer le droit chemin.*

*Vous avez déployé énormément d'efforts pour  
que nous ne manquions de rien.*

*Vous êtes une mère formidable.*

*Je t'aime et je te souhaite longue vie dans la bonne  
santé et le bonheur.*

*A mes très chères sœurs*

*Hind, Hasna et Btissam*

*Vos grands cœurs, vos qualités humaines*

*m'ont toujours impressionné*

*Vous m'avez soutenu dans les différentes*

*étapes de ma vie et de mes études.*

*Mon amour pour vous est si profond.*

*A mes chers frères*

*Rachid, Salah et Bilal*

*Vous avez été d'une gentillesse et d'une serviabilité  
remarquables.*

*Je vous en serai toujours reconnaissante.*

*Soyez assurés de toute mon affection, mon amour  
et ma tendresse, avec tous mes souhaits  
de réussite dans vos vies privées et professionnelles.*

*A ma tante*

*Salha Ait Lhoucine*

*Vous m'avez accueilli chez vous, vous m'avez soutenu  
et aidé dans les moments difficiles de mes études.*

*Je vous en serai toujours reconnaissant et soyez assurées  
de mon amour, mon estime et mon profond respect.*

*A Mon Adorable et tendre Fiancée*

**OUARDI RAOUIA**

*Aucun mot ne saurait exprimer  
mes sentiments les plus profonds envers toi.*

*Tes sacrifices, ton soutien moral, ta gentillesse sans égale,  
ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.*

*Je t'assure que sans ton aide,  
tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.*

*Que ce travail soit le témoignage  
de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

*A mon cher ami*

*Ali Mabrouk*

*Me voilà arrivé à la fin d'un long et difficile parcours.  
tu es plus qu'un ami, tu es un frère. Tu étais toujours  
présent pour me soutenir, m'écouter et me gêner,  
tu m'as beaucoup appris, je t'en serai toujours reconnaissant.  
je t'aime mon frère et je te dédie ce modeste travail.*

*A la mémoire de mes grands-parents paternels.*

*A toute la famille BALOUKI*

*A toute la famille OUARDI*

*A toute la famille MABROUK*

*A tous mes oncles et tantes*

*et à tous mes cousins*

*Et cousines.*

*Veillez trouver dans ce modeste travail*

*L'expression de mon affection la plus sincère.*

*A mes chères amies*

*OUMAYMA, HIND, KAOUTER, MERJEM.*

*A mes chers amis*

*ABOUBAKER, AMINE, ISSAM, SAID, YOUSSEF,  
ABDELLAH, TAOUFIK ZAKARYA, MOHAMMED..*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères  
pour vous exprimer mon affection et mes pensées,  
vous êtes pour moi des frères et sœurs  
et des amis sur qui je peux compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs  
de tous les moments que nous avons passé ensemble,  
je vous dédie ce travail et je vous souhaite  
une vie pleine de santé et de bonheur.*



*Remerciements*

*A notre Maitre et Président de thèse*

*Monsieur Le Professeur*

*Mimoun ZOUHDI*

*Professeur de microbiologie*

*Nous sommes très honorés par votre présence  
dans la présidence de notre jury de thèse.*

*Nous vous présentons tout notre respect devant vos compétences  
professionnelles, vos qualités humaines  
et votre disponibilité pour vos étudiants.*

*Nous vous prions, cher Maître, d'accepter ce travail en témoignage à  
notre grande estime et profonde gratitude*

*A notre Maitre et Rapporteur de thèse*

*Madame Le Professeur*

*Sakina EL HAMZAOUI*

*Professeur de microbiologie*

*Je ne pourrais vous remercier assez pour votre bonté,  
votre modestie et votre écoute, vos qualités humaines chère professeur n'ont  
d'égal que vos compétences scientifiques.*

*Vous m'avez honoré en acceptant de diriger mon travail,  
et j'étais d'autant plus comblé quand j'ai découvert  
une nouvelle définition du travail avec vous, avec vous j'ai été initié à mon  
tout premier travail scientifique dans une ambiance chaleureuse et détendue  
sans que cela ne retranscrive en rien  
de la rigueur et de la pertinence du travail.*

*Par ailleurs, il m'est autant agréable que aisé de dire,  
que durant cette collaboration j'ai vécu une expérience humaine  
inédite qui ne pourra que m'éclairer aussi bien dans ma vie privée  
que dans l'exercice de ma profession.*

*Professeur, vous encouragez vos étudiants  
à briller et se démarquer du lot ...  
et cela me comble de fierté de côtoyer  
des personnalités de votre calibre.*

*A notre Maître et juge de thèse,*

*Monsieur le Professeur*

*Yassine SAKHSSOUKH*

*Professeur de microbiologie*

*Nous sommes particulièrement touchés par la gentillesse  
avec laquelle vous avez bien voulu accepter de juger ce travail.*

*Votre parcours professionnel, votre compétence incontestable et vos  
qualités humaines font de vous un grand professeur et nous inspirent  
une grande admiration et un profond respect. Permettez nous,*

*Cher Maître de vous exprimer  
notre profond respect et notre sincère gratitude.*

*A notre Maitre et Juge de thèse*

*Madame Le Professeur*

*Saida TELLAL*

*Professeur de biochimie*

*C'est pour nous un grand honneur que vous acceptiez  
de siéger parmi notre honorable jury.*

*Votre modestie, votre sérieux et votre compétence  
professionnelle seront pour nous un exemple  
dans l'exercice de notre profession.*

*Permettez-nous de vous présenter dans ce travail,  
le témoignage de notre grand respect.*

*A Notre Maître et juge de thèse*

*Monsieur le professeur*

*Ahmed ELGOAZI*

*Professeur de pédiatrie*

*C'est pour nous un immense plaisir de vous voir siéger*

*parmi les Membres du jury de notre thèse.*

*Votre apport est pour nous, considérable,*

*et nous vous en sommes reconnaissants.*

*Recevez toute notre considération.*

*A notre Maitre et Juge de thèse  
Madame Le Professeur  
NEZHA ELMASSAOUDI  
Professeur de hematologie biologique*

*Vous avez accepté avec gentillesse de juger mon travail,  
et c'est pour moi un grand honneur.  
L'occasion m'est ainsi offerte pour exprimer mon admiration  
et ma gratitude.  
Veuillez accepter l'expression de ma reconnaissance  
et de mon profond respect.*

## LISTE DES ACRONYMES

**ADN** : acide désoxyribose nucleotidique

**alg** : alginate

**Amk** : amikacine

**AmpC** : la céphalosporinase

**ARNr** : acide ribose nucleotidique ribosomal

**ATM** : aztréonam

**BET** :Bromure d'éthidium

**BGN** : *bacille gram négatif*

**BMR** : bactéries multi résistantes

**BORSA** : Borderline Oxacilline Resistant Staphylococcus aureus

**C3G** : céphalosporine 3 génération

**CA** :commission des antibiotiques

**Carba NP test** : Carba Nordmann-Poirel test

**CASFM** : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CAZ** : ceftazidime

**CIP** : ciprofloxacine

**CLIN** : comité de lutte contre les infections nosocomiales

**CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute

**CMI** : concentration minimale inhibitrice

**CNR** : Centre National de Référence

**CTX** : céfotaxime

**CTX-M** : Céfotaximase -Munich

***E. coli*** : *Escherichia coli*

**E-blse** : entérobactéries bêta lactamases à spectre large

**EDTA** : ethylene-diamin-tetra-acetic-acid

**EOHH** : équipe opérationnelle d'hygiène hospitalière

**EPC** : Entérobactéries productrices de carbapénémases

**ESAC** : Extended Spectrum AmpC

**FEP** : céfépime ;

**FOS** : fosfomycine

**GES** : Guyana Extended-Spectrum Beta-lactamase

**GMI** : gentamicine

**ICT** : test immunochromatographique

**IDSA** : société américaine d'Infectiologie

**IPM** : imipénème

**IU** : infection urinaire

**IβL** : inhibiteurs des bêta lactamines

**LCR** : liquide céphalorachidien

**LPXTG** : Leu-Pro-X-Thr-Gly)

**MALDI-TOF** : Matrix-assisted laser desorption ionisation-time of flight

**MBL** : métallo bêta lactamase

*mcr* : *mobilized colistin resistance*

**MEM** : méropénème

**MH** : Mueller Hinton

**MSCRAMMs** : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules

**muc** : mucoïde

**NCBI** : National Center for Biotechnology Information

**NTM** : nêtilmicine

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**ONERBA** : observatoire national de l'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques

**OXA** : oxacilline

**PAR** : *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant  
**PBP2a** : pénicilline -binding protein 2a  
**PCR** : Polymerase Chain Reaction  
**PER** : Pseudomonas extended resistance  
**PIP** : pipéracilline  
**PLP** : protéines de liaison à la pénicilline  
**PLZ** : plazomycine  
**Qnr** : quinolones resistance  
**QRDR** : quinolone résistance determining région  
**RND** : Resistance Nodulation cell Division family  
**SARM** : staphylococcus aureus résistant à la méticilline  
**SCC** : *staphylococcal* cassette chromosome  
**SHV** : Sulphydryl variable  
**STR** : *Streptocoque*  
**TCC** : ticarcilline/ac. clavulanique  
**TEM** : Temoneira - nom du patient  
**TIC** : ticarcilline  
**TMN** : tobramycine  
**TZP** : tazobactam/pipéracilline  
**VEB** : Vietnam Extended-spectrum Beta-lactamase

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Taxonomie <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline.....	11
<b>Figure 2</b> : Aspect de Staphylocoque aureus en microscopie électronique .....	13
<b>Figure 3</b> : Composition de la cassette .....	14
<b>Figure 4</b> : Staphylect Plus positif.....	17
<b>Figure 5</b> : Enclenchement des BD MAX MRSA Extraction Tubes et Master Mix Tubes dans les barrettes réactives unitarisées.....	19
<b>Figure 6</b> : Chargement des BD MAX PCR Cartridges.....	19
<b>Figure 7</b> : Chargement du ou des portoirs sur le BD MAX System.....	20
<b>Figure 8</b> : Tube coagulase test.....	22
<b>Figure 9</b> : Méthode de diffusion par disque .....	23
<b>Figure 10</b> : La nature du milieu n'influence pas le résultat .....	24
<b>Figure 11</b> : Principe du test Clearview Exact PBP2a .....	25
<b>Figure 12</b> : Xpert MRSA test .....	26
<b>Figure 13</b> : La famille des TEMs.....	34
<b>Figure 14</b> : Réalisation d'un test de synergie .....	39
<b>Figure 15</b> : Disposition des disques .....	40
<b>Figure 16</b> : Escherichia coli BLSE .....	40
<b>Figure 17</b> : A : Principe du test BLSE NPD . B. Résultats représentatifs de l'épreuve BLSE NPD . Le test ESBL NDP a été effectuée avec E. coli produisant la $\beta$ - lactamase à spectre étendu CTX -M- 15 . après 15mn d'incubation .....	42
<b>Figure 18</b> : - A. Principe du Carba NP test. B. Résultats du Carba NP test.....	45

<b>Figure 19 :</b> Protocole pour la détection et l'identification des souches portant carbapénèmases directement à partir de cultures de sang supplémentés en utilisant MALDI	-
TOF MS.....	47
<b>Figure 20:</b> Réalisation d'un test de Hodge modifié.....	48
<b>Figure21:</b> Test de Hodge modifié pour la détection des carbapénèmases.....	51
La production de carbapénémase est objectivée par une déformation de la zone d'inhibition autour d'un disque d'ertapénème (ETP) de la souche de référence Escherichia coli ATCC 25922 le long des stries correspondant au témoin positif (T+, K. pneumoniae ATCC BAA-1705 produisant la carbapénémase KPC-2) et à la souche test (ici K. Pneumoniae produisant OXA-48). La zone d'inhibition de la souche de référence E. coli ATCC 25922 reste inchangée au contact de la strie correspondant un témoin négatif (T-, K. pneumoniae ATCC BAA-1706).....	51
<b>Figure 22:</b> E-test® MBL IP/IPI : imipénème ± EDTA [bioMérieux] .....	52
<b>Figure 23 :</b> efficacité de la témocilline sur l'E. coli BLSE, sensibilité > 97% pour des CMI > 16 mg/l 16ème JNI, Nancy, 10 au 12 Juin 2015 .....	56
<b>Figure 24:</b> l'activité du plazomycine(PLZ) comparée gentamicine(GEN) et amikacine(AMK) .....	68
<b>Figure 25 :</b> Distribution géographique des souches d'entérobactéries productrices d'une résistance plasmidique à la colistine de type MCR (mobilized colistin resistance) au 1er août 2016 .....	70
<b>Figure 26</b> Algorithme de traitement des infections à EPC.....	72
<b>Figure 27:</b> Galerie API 20NE .....	77
<b>Figure 28 :</b> Antibiogrammes d'une souche de Pseudomonas aeruginosa surproduisant la céphalosporinase naturelle, AmpC. Antibiogrammes réalisés selon les recommandations du CA-SFM 2015, sur un (A) milieu de Mueller Hinton (B) et un	

milieu de Mueller Hinton additionné de 2000 mg/mL de cloxacilline. FEP : céfépime ; PIP : pipéracilline ; TZP : tazobactam/pipéracilline ; CTX : céfotaxime ; TIC : ticarcilline ; TCC : ticarcilline/ac. clavulanique ; CAZ : ceftazidime ; MEM : méropénème ; IPM : imipénème ; GMI : gentamicine ; TMN : tobramycine ; ATM : aztréonam ; FOS : fosfomycine ; NTM : nétilmicine ; CIP : ciprofloxacine ; AN : amikacine.....	84
<b>Figure 29</b> : AntibioGramme d'une souche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> présentant une altération de la porine OprD.....	88
<b>Figure 30</b> :Groupe d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	91
<b>Tableau X</b> Séquences des amorces utilisées pour la détection moléculaire du gène bla <sub>OXA51-like</sub> chez <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	92
<b>Figure 31</b> : Profil d'électrophorèse en champ pulsé obtenu à partir de sept souches (1, 2, 4, 5, 12, 13, 14) d' <i>Acinetobacter baumannii</i> dont les génomes ont été préalablement digérés par l'enzyme ApaI .....	96
<b>Figure 32</b> : Dendrogramme obtenu à partir du champ pulsé.....	97
<b>Figure 33</b> : la coloration de Gram d'un <i>S. pneumoniae</i> dans du liquide céphalorachidien.....	107
<b>Figure 34</b> : lyse des colonies de <i>Streptocoque pneumoniae</i> par la bile .....	109
<b>Figure 35</b> : Slidex pneumo-kit® (bioMérieux) .....	110
<b>Figure 36</b> : BinaxNOW Streptocoque pneumoniae .test de l'antigène urinaire .....	111
présentant un résultat positif à gauche et un résultat négatif à droit .....	111
<b>Figure 37</b> : Mesure de la CMI du cefotaxime sur une souche de <i>Streptococcus pneumoniae</i> a l'aide d'une bandelette imprégnée d'antibiotique "CTX".....	114
<b>Figure 38</b> : Mesure de la CMI de la ceftriaxone sur une souche de <i>Streptococcus pneumoniae</i> a l'aide d'une bandelette impregnee d'antibiotique.....	114
<b>Figure 39</b> : différents phénotypes de résistance du <i>S pneumoniae</i> aux macrolides apparentés.....	116

<b>Figure 40</b> : Aspect d'un <i>Entérocooccus faecalis</i> en microscope optique .....	123
<b>Figure 41</b> : Carte du transposon Tn1546.....	127
<b>Figure 42</b> : Coupes tomодensitométriques thoraciques axiales en fenêtre parenchymateuse montrant l'aspect du lobe supérieur gauche avant traitement (A), la cavité résiduelle principale lobaire supérieure gauche après le traitement médical seul (B), la prothèse extra-pleurale en place (C), et l'aspect du lobe supérieur gauche après retrait de la prothèse (D). .....	140
<b>Figure 43</b> : Moyens de transmissions des bactéries en milieu hospitalier .....	143
<b>Figure 44</b> : Structure de la protéine de liaison au fibrinogène (ClfA) et de la protéine de liaison au collagène (Cna) de <i>Staphylocoque aureus</i> .....	162
<b>Figure 45</b> : Diagramme du gène spa avec chaque boîte illustrant les domaines de la protéine codés par les différents segments du gène ainsi que la localisation des amorces sens et antisens.....	163
<b>Figure 46</b> : Structure des protéines de liaison à la fibronectine de <i>Staphylocoque aureus</i> .....	164
<b>Figure 47</b> : schéma simplifié d'un chemostat.....	176
<b>Figure 48</b> : Expérience de Griffith, Avery, Mac Leod.....	179

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> Différents caractères bactériologiques de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
<b>Tableau II</b> Interprétation des résultats du BD MAX MRSA Assay .....	21
<b>Tableau III</b> Activité in vitro des carbapénèmes sur les bactéries à Gram négative, les CMI <sub>50</sub> et CMI <sub>90</sub> en mg/L .....	63
<b>Tableau IV</b> Activité in vitro des carbapénèmes sur les bactéries à Gram positif. Les CMI <sub>50</sub> et CMI <sub>90</sub> en mg/L. ....	63
Bactéries.....	63
<b>Tableau V</b> Le spectre d'action de l'avibactam en comparaison avec les anciens inhibiteurs des béta-lactamases .....	74
<b>Tableau VI</b> Associations des inhibiteurs des béta-lactamases.....	74
<b>Tableau VII</b> Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	76
<b>Tableau VIII</b> Classification d' <i>Acinetobacter baumannii</i> selon Bergey's manual .....	90
<b>Tableau IX</b> Caractères morphologiques d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	91
<b>Tableau X</b> Séquences des amorces utilisées pour la détection moléculaire du gène bla <sub>OXA51-like</sub> chez <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	92
<b>Tableau XI</b> Séquences des amorces utilisées pour l'identification, par PCR multiplexe, des espèces appartenant au complexe << <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> et <i>Acinetobacter baumannii</i> >> .....	94
<b>Tableau XII</b> Résumé des principales données des méta-analyses de Ling et al. et Bwanga et al. ....	136

# SOMMAIRE

<b>I. INTRODUCTION</b> .....	2
<b>II. HISTORIQUE</b> .....	5
<b>III DEFINITION DES BMR</b> .....	9
<b>IV <i>STAPHYLOCOCCUS</i> AUREUS RESISTANT A LA METHICILLINE (SARM)</b> .....	11
IV.1 Taxonomie.....	11
IV.2 Caractères bactériologiques .....	12
IV.3 Mécanismes de résistance à la méticilline .....	14
IV.4 Détection de la résistance à la méticilline .....	15
IV.4.1 Test du Clumping Factor.....	15
IV.4.2 BD MAX™ MRSA XT.....	18
IV.4.3 Test de la coagulase libre et liée .....	21
IV.4.4 Méthode de diffusion par disque .....	22
IV.4.5 Clearview Exact PBP2a.....	24
IV.4.6 Xpert MRSA.....	25
IV.5 Approche thérapeutique : .....	27
IV.5.1 SARM et vancomycine, linézolide.....	27
IV.5.2 SARM et Fosfomycine .....	29
IV.5. 3 Trio d'antibiotique contre SARM .....	30
<b>V. <i>ENTEROBACTERIES</i> PRODUCTRICES DE BETA-LACTAMASES A SPECTRE ELARGI</b> .....	32
V.1 Caractères morphologiques.....	32
V.2 Différents types de BLSE .....	33
V.2.1 Anciennes BLSE .....	33

V.2.1.1 BLSE de type TEM (Temoneira - nom du patient).....	33
V.2.1.2 BLSE de type SHV (Sulfhydryl variable).....	35
V.2.2 Nouvelles BLSE.....	35
V.2.2.1 BLSE de type CTX-M (Céfotaximase -Munich ) .....	35
V.2.2.2 BLSE de type PER (Pseudomonas extended resistance ).....	36
V.2.2.3 BLSE de type VEB (Vietnam Extended-spectrum Beta-lactamase ).....	36
V.2.2.4 BLSE de type GES (Guyana Extended-Spectrum Beta-lactamase ).....	37
V.2.2.5 BLSE de type OXA (Oxacillinase ).....	37
V.3 Détection des BMR chez les entérobactéries.....	38
V.3.1 Détection des <i>E-BLSE</i> .....	38
V.3.2 Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC).....	43
V.4 Approche thérapeutique des entérobactéries .....	55
V.4.1 Approche thérapeutique des E-BLSE.....	55
V.4.1.1 Intérêt de la témocilline .....	55
V.4.1.2 BLSE et les C3G et l'aztréonam.....	56
V.4.1.3 E BLSE et la fosfomycine : .....	58
V.4.1.4 E. BLSE et les Quinolones: .....	59
V.4.1.5 E BLSE et les carbapénèmes:.....	61
V.4.2 Approche thérapeutique : entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) .....	64
V.4.2.1 Mécanismes d'action.....	64
V.4.2.2 Les mécanismes de résistance aux carbapénèmes .....	64
V.4.2.3 Les molécules utilisables : .....	65

<b>VI. PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRESISTANT (PAR)</b> .....	76
VI.1 Taxonomie.....	76
VI.2 Caractéristiques .....	77
VI.3 Identification des souches.....	77
VI.3.1 Galerie API 20NE.....	77
VI.4. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques .....	78
VI.4.1 Diffusion des disques en milieu gélosé de Mueller-Hinton (MH) .	78
VI.4.2 Test à l'EDTA .....	79
VI.4.3 Détection de métallob- $\beta$ -lactamases par bandelette E-test.....	81
VI.5 Identification des gènes de résistance par PCR simple.....	81
VI.6 Résistance aux $\beta$ -lactamines .....	82
VI.6.1 Modification de mécanismes intrinsèques .....	82
VI.6.2 Surproduction de la céphalosporinase naturelle, AmpC .....	83
VI.6.3 Surproduction des systèmes d'efflux actif.....	85
VI.6.4 Altération de la porine OprD .....	87
VI.6.5 Acquisition d'ADN étranger .....	88
<b>VII. ACINETOBACTER BAUMANNII MULTI RESISTANT (BAR)</b> ..	90
VII.1 Taxonomie .....	90
VII.2. Caractères morphologiques .....	91
VII.3 Identification d' <i>Acinetobacter baumannii</i> par détection du gène blaOXA-51-like.....	92
VII.3.1 Identification des espèces appartenant au complexe « <i>Acinetobacter calcoaceticus/ Acinetobacter baumannii</i> » par PCR multiplexe ciblant le gène gyrB.....	93

VII.3.2	Identification des espèces d' <i>Acinetobacter</i> par séquençage du gène rpoB.....	94
VII.3.3	Identification des espèces appartenant au complexe « <i>Acinetobacter calcoaceticus/ Acinetobacter baumannii</i> » par séquençage de l'espace intergénique 16S-23S de l'ARN ribosomique .....	95
VII.4	Résistance acquise aux $\beta$ -lactamines .....	97
VII.4.1	$\beta$ -lactamase de classe A et BLSE.....	97
VII.4.2	$\beta$ -lactamase de classe C .....	98
VII.4.3	Résistance acquise aux carbapénèmes .....	99
VII.4.3.1.	Les $\beta$ -lactamases de Classe B (mérallo- $\beta$ -lactamases, M $\beta$ L).....	99
VII.4.3.2.	Les $\beta$ -lactamases de Classe D (appelées oxacillinases) .....	100
VII.4.4	Diminution de la perméabilité membranaire .....	103
VII.4.5	Efflux.....	104
VII.4.6	Modification de PLPs.....	104
<b>VIII.</b>	<b><i>PNEUMOCOQUE</i> MULTIRESISTANT.....</b>	<b>106</b>
VIII.1	Taxonomie .....	106
VIII.2	Morphologie .....	106
VIII.3	Diagnostic du pneumocoque : .....	108
VIII.3.1	La culture .....	108
VIII.3.2	Test immunochromatographique .....	111
VIII.4	Pneumocoque et la résistance aux $\beta$ -lactamines .....	112
VIII.4.1	Historique et mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines : .....	112
VIII.4.2	Mesure de la sensibilité aux B-lactamines : .....	113
VIII.5	Pneumocoque et résistance aux Macrolides apparentés .....	115
VIII.5.1	Mécanismes de résistance .....	115

VIII.6	Peumocoque et linézolides .....	117
VIII.7	Peumocoque et glycopeptides .....	117
VIII.8	Peumocoque et quinolones.....	117
VIII.9	Pneumocoque et sulfamides, triméthoprimé et cotrimoxazole .....	119
VIII.10	Pneumocoque et Rifampicine.....	119
VIII.11	Pneumocoque et les tétracyclines .....	120
VIII.12	Pneumocoque et chloramphénicol.....	120
VIII.13	Pneumocoque et aminosides .....	120
<b>IX.</b>	<b><i>ENTEROCOQUE</i> RESISTANT A LA VANCOMYCINE .....</b>	<b>122</b>
IX.1.	Caractères généraux.....	122
IX.2	Mécanisme de résistance .....	123
IX.2.1	Résistance aux $\beta$ -lactamines .....	124
IX.2.1.1	Résistance naturelle.....	125
IX.2.1.2	Résistance acquise .....	125
IX.2.2	Résistance aux Glycopeptides.....	125
IX.2.2.1	Résistance naturelle.....	126
IX.2.2.2	Résistance acquise .....	126
IX.2.3	Résistance aux Aminosides .....	127
IX.2.3.1	Résistance naturelle.....	128
IX.2.3.2	Résistance acquise .....	128
IX.2.4	Résistance aux Macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS) .....	129
IX.2.4.1	Résistance acquise .....	129
IX.3	Tests de sensibilité aux antibiotiques .....	130
IX.4	Méthodes d'analyses bioinformatiques .....	130

<b>X- LE BACILLE DE KOCH ( TUBERCULOSE ) :</b>	133
X. 1 Résistances chez le <i>Mycobacterium tuberculosis</i> : la multi-résistance et l'ultra résistance :	133
X.2 Etude in vitro de la résistance	134
X.2.1 Tests phénotypiques :	134
X.2.2 Tests génotypiques	135
a) Line Probe Assay : test GenoType <sup>®</sup> MTBDR	135
b) Xpert <sup>®</sup> MTB/RIF	136
c) Tests moléculaires	136
X.3 L'approche thérapeutique	137
X.3.1 La Bédaquiline	137
X.3.2 La collapsothérapie dans la tuberculose pulmonaire ultra-résistante :	137
<b>XI. RECOMMANDATIONS</b>	143
XI.1 Maîtrise de la diffusion des BMR	143
XI.1.1 Etablissement de protocoles d'hygiène et formation du personnel en matière d'hygiène hospitalier	145
XI.1.2 Dépistage des bactéries multirésistantes	146
XI.1.2.1 Identification des porteurs	146
XI.1.2.2 Eradication du portage	147
XI.1.2.3 Evaluation de la qualité de la prescription et du respect des mesures d'hygiène dans l'hôpital	148
XI.2 Prévention de l'émergence de BMR	148
XI.2.1 La commission des antibiotiques	149
XI.2.2 Le laboratoire de microbiologie	150

XI.2.2.1 Diagnostic de l'infection, initiation et suivi de l'antibiothérapie .....	150
XI.2.2.2 Surveillance épidémiologique .....	150
XI.2.2.3 Système d'alerte.....	150
XI.2.3 La pharmacie hospitalière .....	151
XI.2.3.1 Gestion, approvisionnement, détention .....	151
XI.2.3.2 Dispensation : rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre la résistance bactérienne .....	151
XI.2.3.3 Information .....	156
XI.2.3.4 Evaluation.....	156
XI.2.4 Les services cliniques .....	157
XI.3 Information et formation .....	157
<b>XII. CONCLUSION .....</b>	<b>160</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>161</b>
<b>RESUMES .....</b>	<b>182</b>
<b>REFEREENCES .....</b>	<b>186</b>



# *Introduction*

## I. INTRODUCTION

Les antibiotiques, qui ont sauvé tant de vies humaines, risquent de devenir inefficaces en raison d'une inquiétante augmentation de la résistance des bactéries à leur encontre et de la raréfaction des nouveaux produits mis sur le marché[1]. Ainsi, des échecs thérapeutiques surviennent déjà pour des infections pourtant banales, mais causées par des bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR), voire résistantes à tous les antibiotiques. L'émergence des bactéries multirésistantes (BMR) est aujourd'hui un phénomène planétaire préoccupant.

Ces bactéries sont responsables d'infections pouvant menacer le pronostic vital des patients sans solutions thérapeutiques satisfaisantes [2]. Par ailleurs, certains actes vont devenir beaucoup plus périlleux (interventions chirurgicales lourdes, greffes d'organes ou traitements immunosuppresseurs).

Les antibiotiques sont des médicaments uniques, car leurs cibles, les bactéries, sont des êtres vivants, capables de s'adapter, en acquérant des mécanismes de résistance aux antibiotiques (mutations ou acquisition de supports portant des gènes de résistance). Charles DARWIN disait que : « Les espèces qui survivent ne sont pas les espèces les plus fortes, ni les plus intelligentes, mais celles qui s'adaptent le mieux aux changements »[3].

Apparemment, les bactéries ont bien compris cela. Elles ont su s'adapter à l'utilisation croissante et irrationnelle d'antibiotiques, par cette particularité unique en thérapie humaine, la prescription de ces derniers reste totalement banalisée chez l'homme comme chez l'animal, et les Marocain restent, malgré quelques progrès timides, parmi les plus gros consommateurs d'antibiotiques .

Les antibiotiques se qualifient comme étant des médicaments « à part » et doivent faire l'objet de prescriptions justifiées. Chaque prescription d'antibiotiques doit être réfléchi, en mettant en balance les effets bénéfiques à court terme pour le patient (qui reste bien sûr prioritaire s'il est bien atteint d'une infection bactérienne) et les effets néfastes à court terme (manifestations d'intolérance ou d'allergies inacceptables si l'antibiotique n'est pas justifié) et à moyen terme sur l'écologie bactérienne par la sélection de BMR qui seront les bactéries responsables d'infections du futur, y compris pour le malade traité. La prescription d'antibiotiques est un acte issu d'une réflexion complexe, dont les déterminants doivent être professionnalisés [1].

Pour illustrer ce phénomène, on s'est basé sur une étude bibliographique afin de mieux comprendre cette résistance aux antibiotiques et aussi les méthodes utilisés pour faire face à ce phénomène.



## II. HISTORIQUE

La découverte accidentelle de Sir Alexander Fleming en septembre 1928, permettant d'isoler la pénicilline, a marqué le début des antibiotiques modernes.

De 1945 à la fin des années 1980, on assistait à l'élaboration de nouvelles classes d'antibiotiques. De nombreuses molécules d'origine naturelle ou synthétique furent ainsi découvertes et ceci plus rapidement que les bactéries ne pouvaient y acquérir une résistance. Mais de 1980 à 1990 la recherche n'a produit aucune nouvelle classe d'antibiotiques ; on a plutôt apporté des améliorations aux antibiotiques à l'intérieur des classes déjà existantes[4].

Après un demi-siècle d'utilisation excessive et/ou inappropriée d'antibiotiques est, sans contexte, la principale raison de l'émergence et la dissémination de la résistance bactérienne à cette classe thérapeutique posent un problème de santé publique très important dont la maîtrise constitue un véritable défi pour les cliniciens, les microbiologistes et les autorités sanitaires.

L'introduction de la pénicilline G en thérapeutique a révolutionné la prise en charge et le pronostic des patients infectés par *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Cependant, des souches résistantes par production d'une pénicillinase sont apparues dès 1942, rendant nécessaire la recherche de nouveaux antibiotiques. La méticilline,  $\beta$ -lactamine résistante aux pénicillinases, a été utilisée à partir de 1960. Comme pour la pénicilline, *S. aureus* a développé rapidement (dès 1961) des résistances vis-à-vis de cet antibiotique [5]. Ces souches résistantes à la méticilline (*SARM*) se sont très rapidement transmises sur un mode épidémique (première épidémie en 1963). A partir du début des années 1980, des souches de *SARM* résistantes à la gentamicine sont apparues et

ont diffusé rapidement dans le monde [6]. Puis, dans les années 1990, la fréquence d'isolement des souches sensibles à la gentamicine a augmenté de nouveau pour devenir nettement majoritaire aujourd'hui (84% d'après les données du CCLIN Paris-Nord) [7]. Enfin, depuis la fin des années 90, deux nouveaux phénomènes ont émergé : les souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides dont la fréquence reste limitée d'une part, et les souches d'origine communautaire qui sont isolées de plus en plus souvent d'autre part.

En 1983 fut découverte en Allemagne la première entérobactérie productrice de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (SHV-2) chez *Klebsiella Ozaenae* [8].

Au cours des dix dernières années : *Escherichia coli* (*E. coli*) est devenu dans le monde entier la première espèce d'entérobactérie productrice de *BLSE* ; les souches d'*E. Coli* productrices de *BLSE* causent des infections survenant autant en ville qu'à l'hôpital; les *BLSE* portées par ces souches d'*E. coli* appartiennent à une nouvelle famille de  $\beta$ -lactamases de classe A, à savoir les CTX-M qui ont pour origine les  $\beta$ -lactamases chromosomiques des *Kluyvera*, espèces d'entérobactéries de l'environnement.

L'histoire du genre *Acinetobacter* remonte au début du 20<sup>ème</sup> siècle.

En 2001 Nemec et al décrivent l'*Acinetobacter ursingii* et *Acinetobacter schendleri*.

En 2003 huit nouvelles nomenclatures ont été validement publiées :

*Acinetobacter bouvetii*, *Acinetobacter gernerii*, *Acinetobacter twonerie*, *Acinetobacter grimontii*, *Acinetobacter parvus*, *Acinetobacter tandoii* et *Acinetobacter baylyi* [9].

*Pseudomonas aeruginosa* fut l'agent responsable des surinfections des plaies au cours de la 1<sup>ère</sup> guerre mondiale, les soldats montrèrent de pus bleu au niveau de leurs plaies.

Le développement de l'hospitalisation et des explorations invasives dans les années 60- 70, connut de graves répercussions par la présence du germe sur les patients hospitalisés.

À la fin du 20<sup>ème</sup> siècle, quelques antibiotiques ne réussissaient plus à vaincre certaines bactéries. Il existe maintenant des souches de *Pseudomonas aeruginosa* qui résistent à tous les agents antibactériens connus [10].

La résistance de *Streptocoque pneumoniae* (*STR. pneumoniae*) à la pénicilline G est signalée dès 1943 au laboratoire et en 1967 chez des patients en Australie[11]. En 1977, les premières souches multirésistantes apparaissent en Afrique du Sud [12]. Depuis, la diffusion de ces souches à un grand nombre de pays a transformé le problème thérapeutique en problème de santé publique.

Les études sur la structure chimique et immunologique du *STR. pneumoniae* ont permis de développer des techniques d'identification et des vaccins. Tentée dès 1911 avec des germes entiers tués, la vaccination n'a connu d'essor qu'avec les vaccins polysidiques capsulaires partiellement purifiés. Ils ont contenu successivement 6 valences (1940), 14 valences (1977) puis 23 valences (1983).


Les vaccins conjugués sont venus plus récemment compléter l'arsenal préventif [13].



*Definition des BMR*

### **III DEFINITION DES BMR**

Les bactéries sont dites multi résistantes aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique [14].



*Staphylococcus aureus*  
*résistant à la méthicilline*  
*(SARM)*

# IV STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTANT A LA METHICILLINE (SARM)

## IV.1 Taxonomie

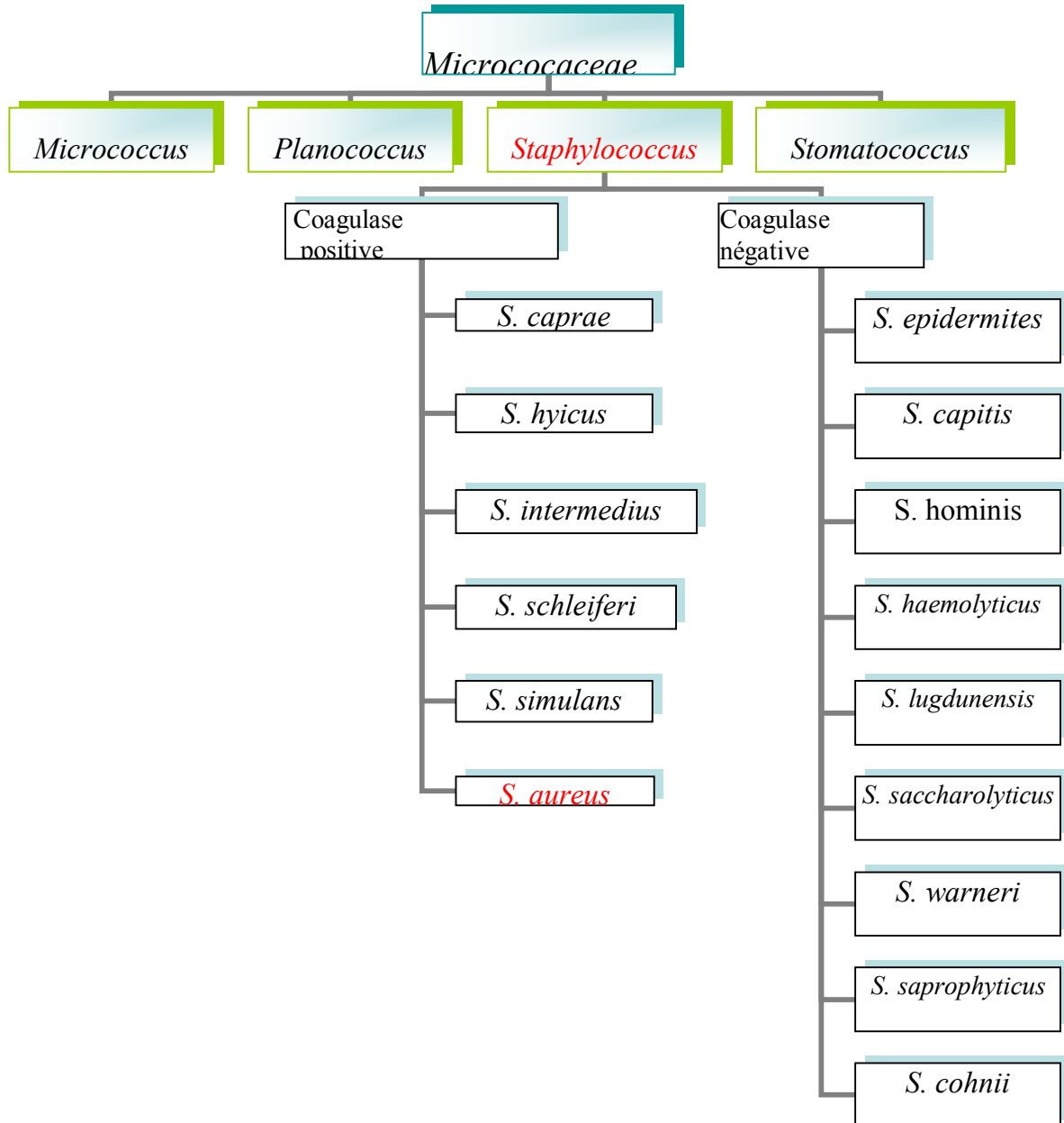


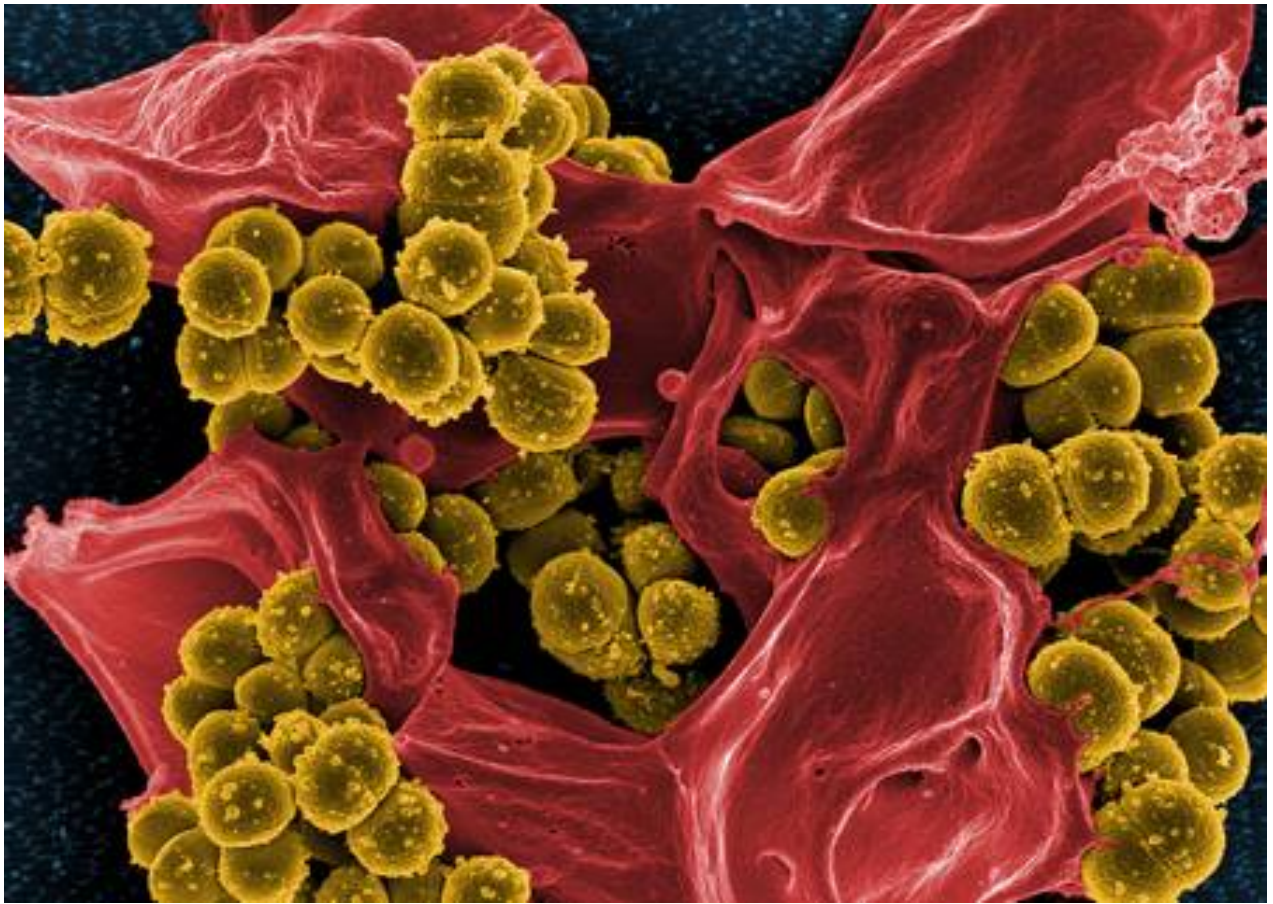
Figure 1 : Taxonomie *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline [15,16]

## IV.2 Caractères bactériologiques

*Staphylococcus aureus* est une bactérie appartenant au groupe des cocci à Gram positif qui se présente en amas ou en grappe de raisin (Figure 2) (Tableau I) [17].

**Tableau I** : Différents caractères bactériologiques de *Staphylococcus aureus*. [18]

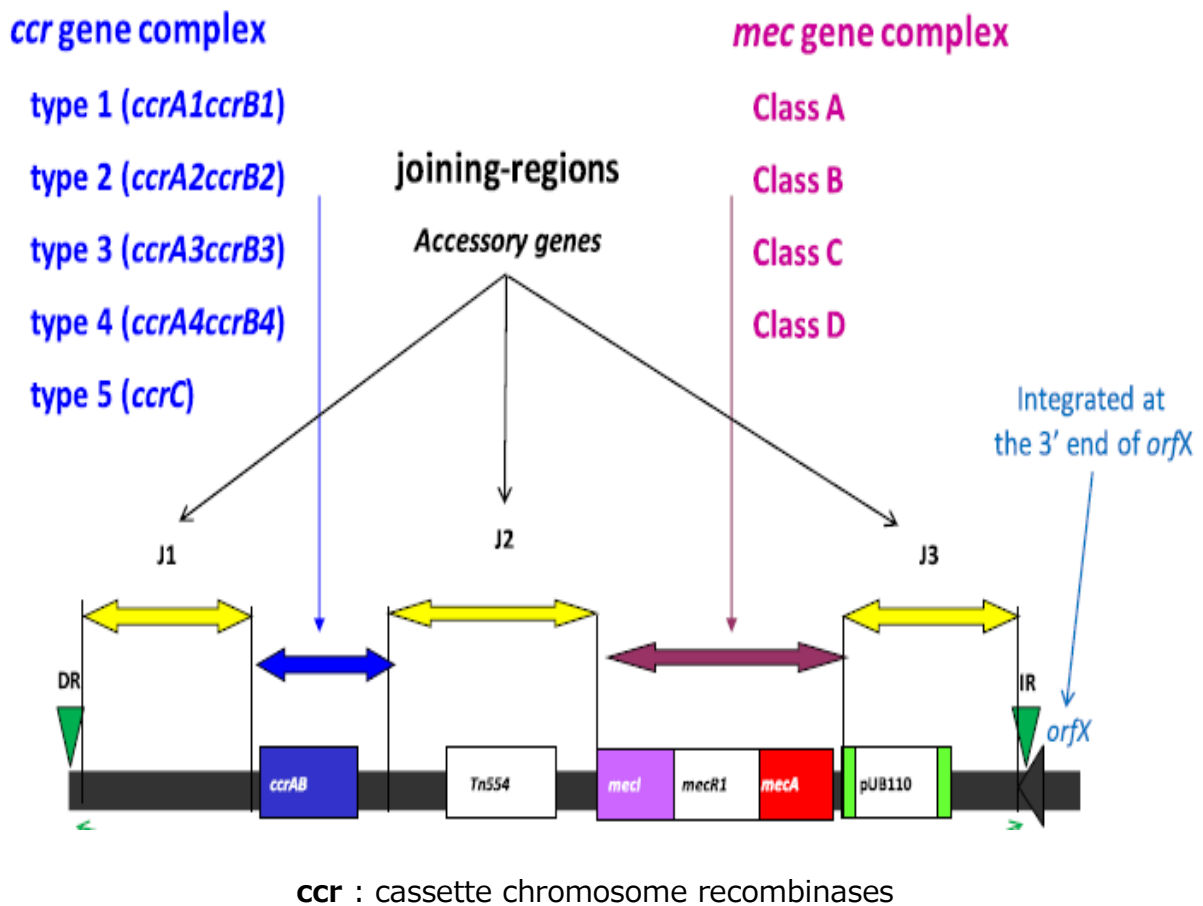
<b>Morphologie</b>	<b>Cocci à Gram positif regroupé en paire, tétrade ou amas réguliers</b> <b>Immobile ; non sporulé</b>
Dimension (µm)	0,5-1
Taille du génome (Mb)	2,8-2,9
Type respiratoire	Aéro anaérobie facultatif
Métabolisme	Fermentaire et/ ou respiratoire
Autre caractères	Catalase positive - oxydase négative Halophile (75 g/L) – mésophile (37°C) et psychrophile (6-12°C)



**Figure 2** : Aspect de Staphylocoque aureus en microscopie électronique [19]

### IV.3 Mécanismes de résistance à la méticilline

La résistance à la méticilline chez les *staphylocoques aureus* est principalement due à la présence du gène *mec A* [20] présent dans une cassette SCC *mec* (*staphylococcal cassette chromosome mec*) (figure 3) [21], c'est un élément génétique mobile intégré dans le chromosome. Ce gène code pour une transpeptidase appelée PLP2a, impliquée dans la synthèse du peptidoglycane et qui a une faible affinité pour la  $\beta$ -lactamine. [22]



**Figure 3** : Composition de la cassette [21]

L'origine de la méticillinorésistance chez *Staphylococcus aureus* est triple :

- Synthèse d'une nouvelle PLP :

Elle est le fait de la présence d'un gène *mecA* qui contrôle la synthèse de PLP additionnelles « anormales » ayant une très faible affinité.

- Production d'enzymes : l'hyperproduction de  $\beta$ -lactamases aboutit à un bas niveau de résistance à l'oxacilline. Ces souches sont nommées BORSA (Borderline Oxacilline Resistant *Staphylococcus aureus*). Cette résistance est rétablie in vitro par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases [23].

- Modification des PLP : appelée aussi résistance intrinsèque, la résistance par modification de la cible moléculaire des  $\beta$ -lactamines est la plus fréquente [24], les PLP sont normales, elles ne sont pas néosynthétisées mais leur affinité pour les  $\beta$ -lactamines est diminuée, modifiée (souche MODSA pour Modified *Staphylococcus aureus*)[23].

#### **IV.4 Détection de la résistance à la méticilline**

##### **IV.4.1 Test du Clumping Factor**

###### **Ex : STAPHYTECT PLUS**

Staphytest Plus (figure 4) est un test d'agglutination au latex sur carte, qui permet de différencier les *Staphylococcus aureus* possédant le clumping factor (annexe 1), la protéine A et des polysaccharides capsulaires spécifiques des souches multirésistantes (MRSA), des autres *Staphylocoques* qui ne les possèdent pas.

Le test Staphylect Plus est constitué de particules de latex bleues, sensibilisées par du fibrinogène de porc et des IgG de lapin incluant des anticorps polyclonaux spécifiques dirigés contre les polysaccharides capsulaires de *S. aureus* [25].

Lorsqu'on mélange sur la carte le réactif avec les colonies de *S. aureus*, il apparaît une agglutination rapide due à la réaction entre le fibrinogène et le clumping factor, le fragment Fc des immunoglobulines G et la protéine A, les IgG spécifiques et les polysaccharides capsulaires.

Le coffret de STAPHYTECT PLUS est composé de :

- Réactif test : Particules de latex bleues sensibilisées par du fibrinogène de porc et des IgG de lapin contenant des anticorps polyclonaux spécifiques dirigés contre les polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.
- Réactif de contrôle : Particules de latex bleues non sensibilisées.
- Cartes de réaction jetables[25].

#### ➤ **Méthode**

Ramener le latex à température ambiante

S'assurer que le latex a été remis en suspension par agitation et expulser le latex du compte goutte.

Ajouter une goutte de latex dans le cercle de réaction prévu à cet effet, et une goutte de latex de contrôle dans l'autre cercle.

Avec une oese stérile, prélever 5 colonies de taille moyenne (équivalent 2–3 mm) et les émulsionner doucement avec le latex de contrôle. Recouvrir l'ensemble de la zone à l'aide de l'oese de façon appropriée.

En utilisant une autre oese, procéder de la même façon avec le latex test.

Imprimer à la carte un mouvement de rotation douce pendant 20 secondes environ et observer l'agglutination sous une lumière normale. Ne pas utiliser de loupe pour la lecture.

Une fois le test terminé, éliminer les cartes de réaction dans une solution désinfectante.

Un résultat est considéré comme positif s'il y a agglutination des particules de latex bleues en moins de 20 secondes.

Un résultat négatif est obtenu si il n'apparaît aucune agglutination et que le latex demeure uniformément bleu dans le cercle test [25].

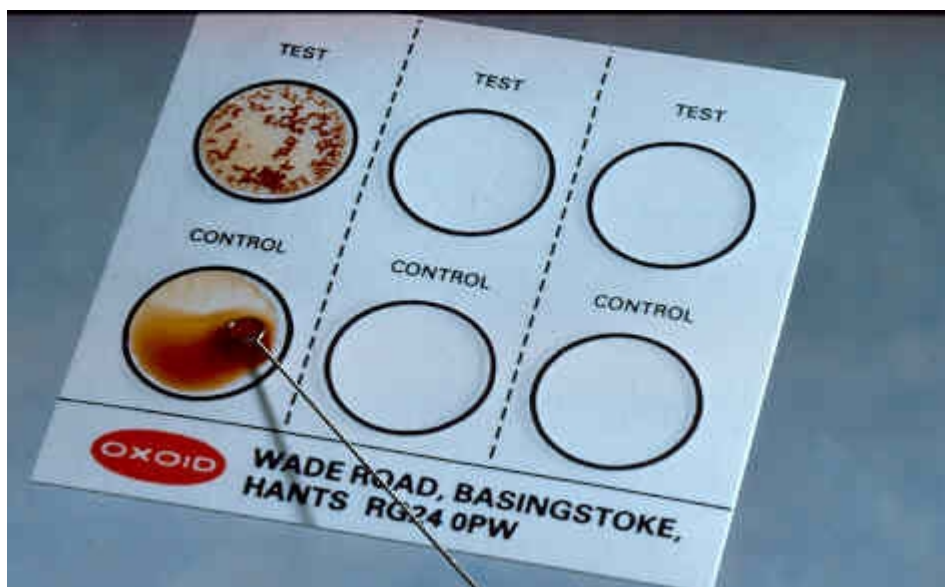


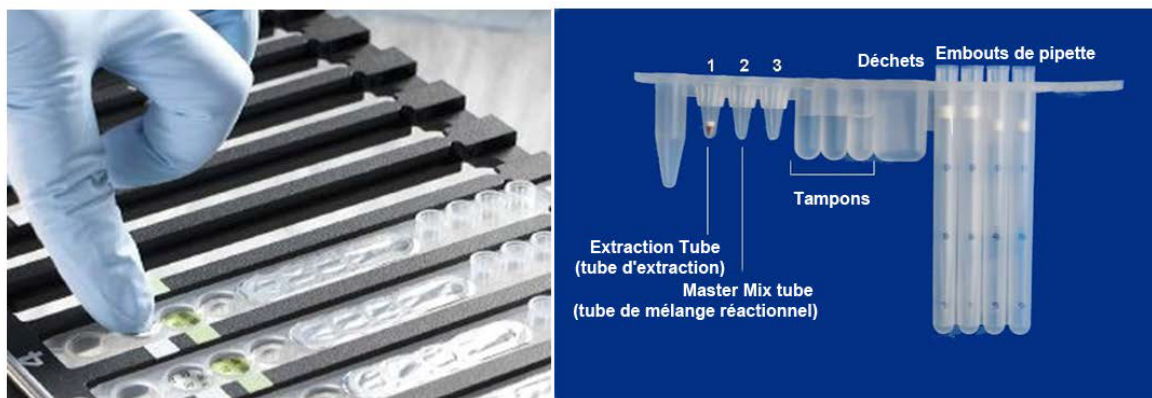
Figure 4 : Staphylect Plus positif [26]

#### **IV.4.2 BD MAX™ MRSA XT**

Le test utilise la technologie de détection eXTended pour identifier précisément un large éventail de souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) dans les prélèvements nasaux de patients [27].

Le BD MAX System utilise une combinaison de réactifs lytiques et d'extraction pour lyser les cellules et extraire l'ADN. À la suite de la lyse enzymatique des cellules à température élevée, les acides nucléiques libérés sont capturés par des billes d'affinité magnétiques. Les billes, liées aux acides nucléiques, sont lavées et les acides nucléiques sont élués par chauffage dans le tampon d'éluion [28]. L'ADN élué est neutralisé, avec un tampon de neutralisation, et transféré dans un Master Mix Tube (Tube de mélange réactionnel) pour réhydrater les réactifs de PCR. Le réactif d'amplification reconstitué est distribué dans la BD MAX PCR Cartridge. Les microvalves de la BD MAX PCR Cartridge sont scellées par le système avant de commencer la PCR pour empêcher l'évaporation ainsi que la contamination par les amplicons. Les cibles d'ADN amplifiées sont détectées par des sondes d'hydrolyse (TaqMan), marquées à une extrémité par un colorant fluorescent (fluorophore) et à l'autre extrémité par un fragment inhibiteur [28]. Des sondes marquées avec des fluorophores différents servent à détecter les amplicons de SARM et de contrôle de traitement de l'échantillon dans deux canaux optiques différents du BD MAX System : les amplicons de SARM sont détectés dans le canal FAM et ceux du contrôle de traitement de l'échantillon sont détectés dans le canal ROX. Quand ces sondes sont à leur état natif, la fluorescence du fluorophore est inhibée à cause de la proximité de l'inhibiteur[28]. Cependant, en présence de l'ADN cible, les sondes s'hybrident à leur séquence complémentaire et sont

hydrolysées par l'activité 5'-3' exonucléase de l'ADN polymérase à mesure que le brin naissant le long de la matrice d'ADN est synthétisé. Il en résulte que les fluorophores sont séparés des molécules inhibitrices et qu'une fluorescence est émise. La quantité de fluorescence détectée dans les deux canaux optiques utilisés pour le BD MAX MRSA Assay est directement proportionnelle à la quantité de la sonde correspondante qui est hydrolysée. Le BD MAX System mesure ces signaux à la fin de chaque cycle d'amplification et interprète les données pour générer un résultat (Figure 5-6-7) [28].



**Figure 5** : Enclenchement des BD MAX MRSA Extraction

Tubes et Master Mix Tubes dans les barrettes réactives unitarisées[28].



**Figure 6** : Chargement des BD MAX PCR Cartridges [28]



**Figure 7** : Chargement du ou des portoirs sur le BD MAX System[28].

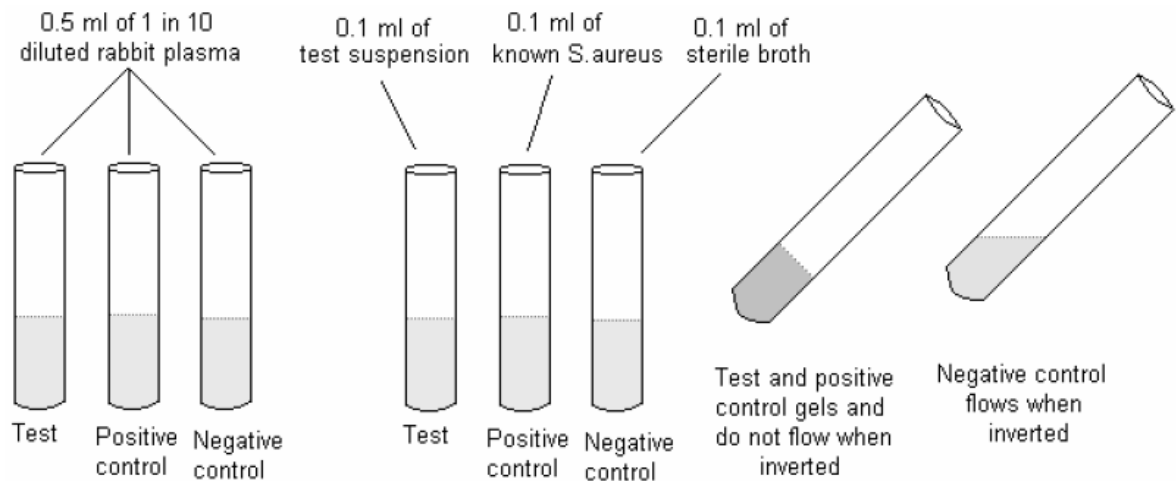
Les résultats sont disponibles dans l'onglet Résultats de la fenêtre Résultats du moniteur du BD MAX System. Le logiciel du BD MAX System interprète automatiquement les résultats de test. Un résultat de test peut être NEG (Négatif), POS (Positif) ou UNR (Non résolu) en fonction du statut d'amplification de la cible et du contrôle de traitement de l'échantillon. Les résultats IND (Indéterminé) ou INC (Incomplet) sont provoqués par un dysfonctionnement du BD MAX System. Les résultats sont basés sur l'algorithme de décision suivant (Tableau II):

**Tableau II :** Interprétation des résultats du BD MAX MRSA Assay [28]

<b>Résultat de test rapporté</b>	<b>Interprétation des résultats</b>
<b>SARM POS</b>	ADN de SARM détecté
<b>SARM NEG</b>	Aucun ADN de SARM détecté
<b>SARM UNR</b>	Non résolu- échantillon inhibiteur ou dysfonctionnement du réactif, aucune amplification de la cible ou du traitement de contrôle de l'échantillon
<b>IND</b>	Résultat indéterminé du a un dysfonctionnement du BD MAX System (avec code d'avertissement ou d'erreur)
<b>INC</b>	Analyse incomplète (avec code d'avertissement ou d'erreur)

#### **IV.4.3 Test de la coagulase libre et liée**

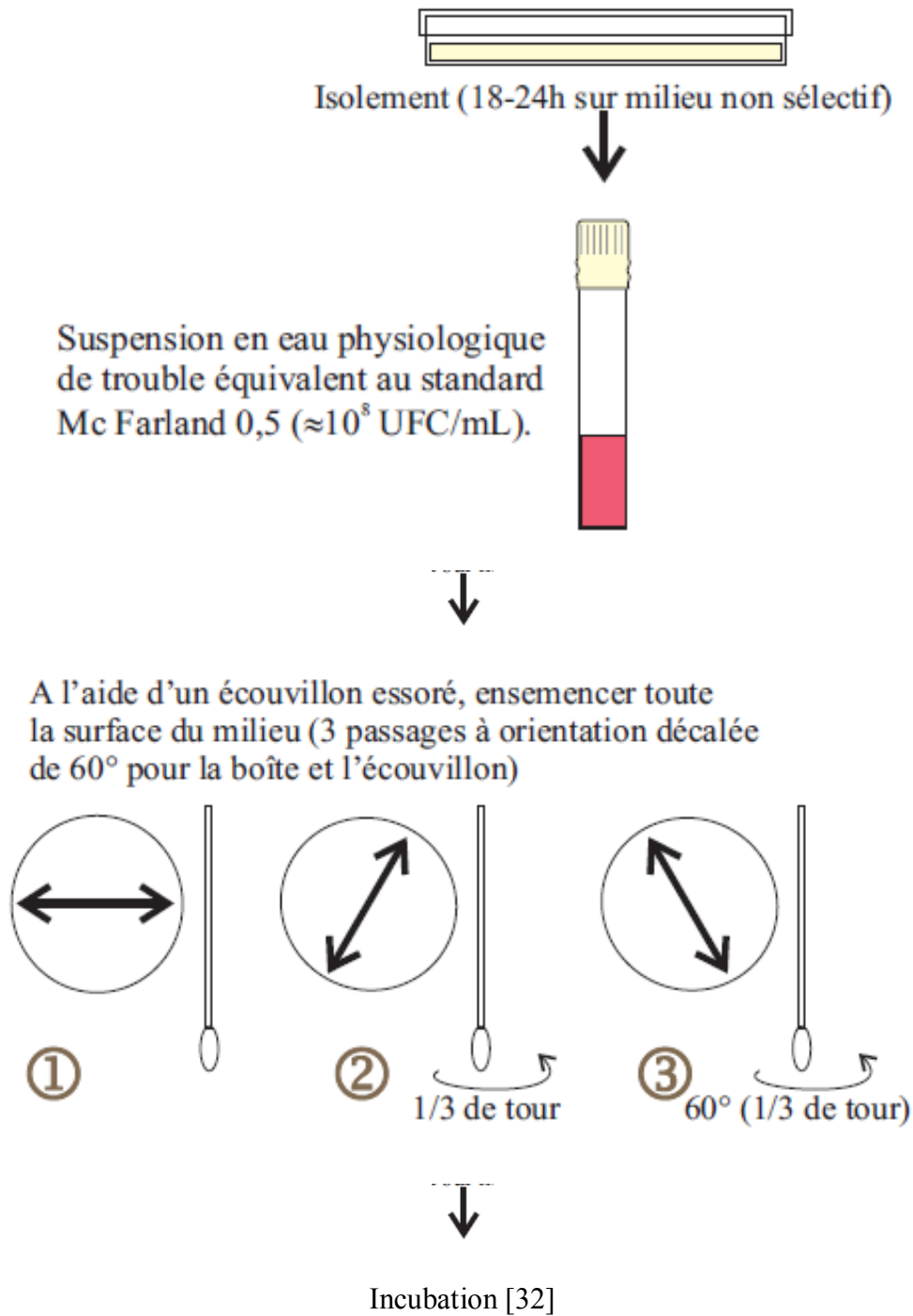
On fait une suspension d'une colonie suspecte de Staphylocoques aureus de 24 heures dans de l'eau distillée. Ensuite, dans un petit tube en verre, on mélange un volume de cette suspension avec un volume de plasma de lapin et on incube à 35 °C en atmosphère normale. Toute formation de caillot endéans quatre heures est considérée comme une réaction positive (figure 8).



**Figure 8:** Tube coagulase test [29]

#### IV.4.4 Méthode de diffusion par disque

On réalise une suspension de 0,5 Mc Farland de colonies de staphylocoques dorés de 24 heures. À l'aide d'un écouvillon, on tapisse l'entièreté de la surface de la boîte de pétri, Mueller-Hinton II puis on y dépose un comprimé d'oxacilline 1  $\mu\text{g}$ . L'incubation se fait à 35 °C pendant 24 heures en atmosphère normale. L'interprétation des zones de sensibilité ou de résistance se fait suivant les normes du (CLSI) Clinical and Laboratory Standards Institute (Fig 9)[30].

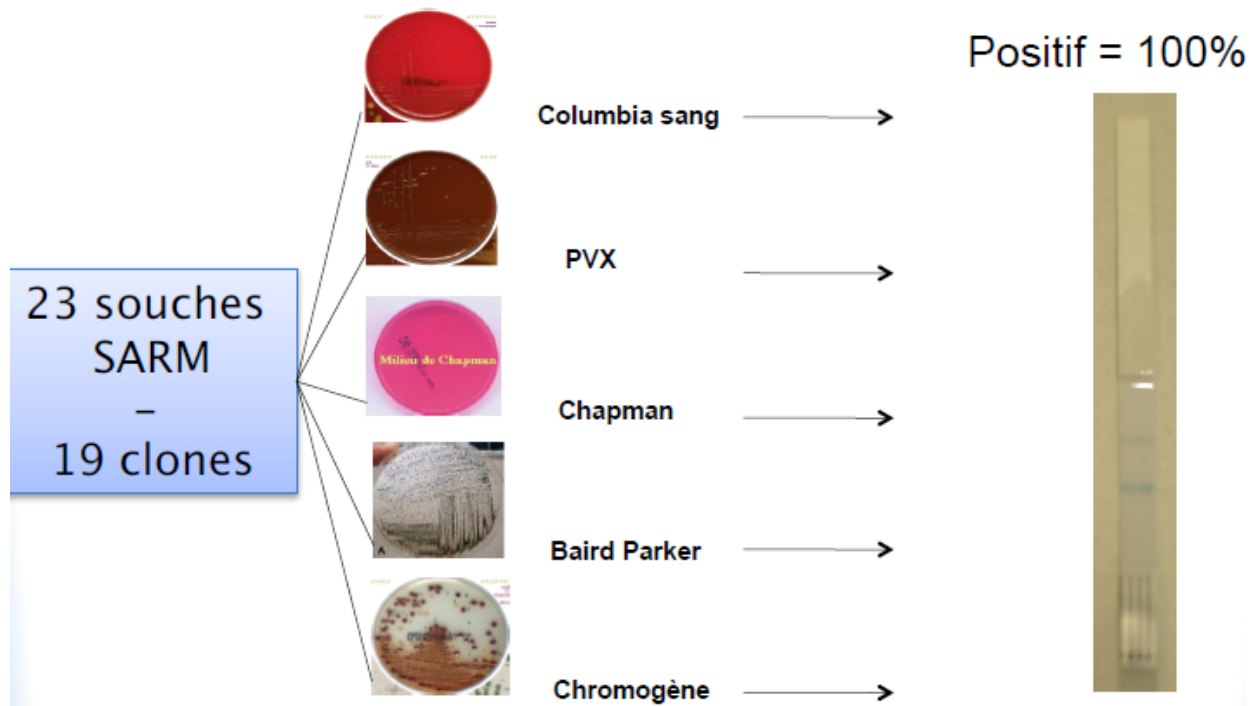


**Figure 9** : Méthode de diffusion par disque

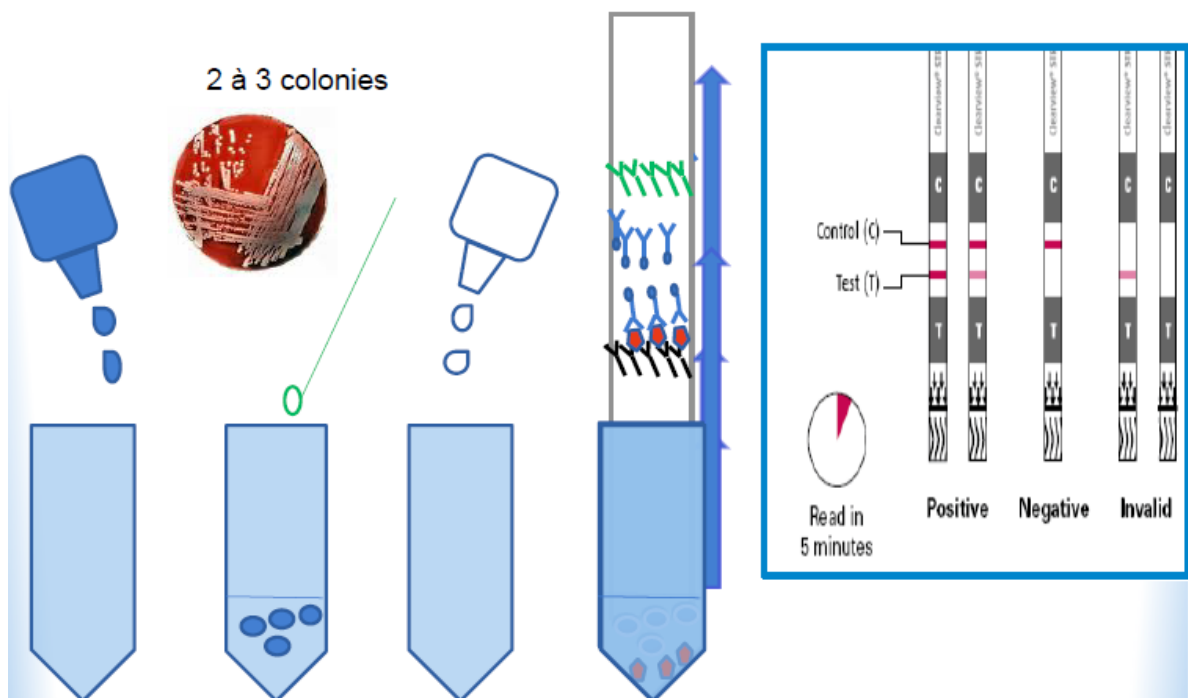
#### IV.4.5 Clearview Exact PBP2a

Clearview Exact PBP2a utilise des anticorps monoclonaux hautement sensibles pour détecter pénicilline -binding protein 2a ( PBP2a ) présent dans SARM

C'est un test rapide : 5 minutes, isolement primaire directe a partir de 2 à 3 colonies seulement et indépendant du milieu (Figure 10-11).



**Figure 10 :** La nature du milieu n'influence pas le résultat [31]



**Figure 11** : Principe du test Clearview Exact PBP2a [31]

#### IV.4.6 Xpert MRSA

Le Xpert MRSA permet le dépistage des patients à l'admission. Le test Xpert MRSA est réalisé sur le système fermé modulable. Il permet d'identifier la cassette SSCmec par RT-PCR sur le GeneXpert à partir d'écouvillonnage nasal. Le test Xpert détecte les six types de cassette SCCmec. La procédure du système Xpert MRSA est très simple et ne nécessite que deux minutes de préparation avec obtention des résultats en 75 minutes. L'automatisation minimise le risque d'erreur et ne requiert pas de personnel qualifié en biologie moléculaire (polyvalence) (Figure 12) [33].

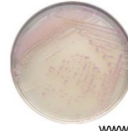
Culture sur TS au sang

Culture sur milieu sélectif SARM  
Culture sur CHROMAgar MRSA II (BD)

Culture

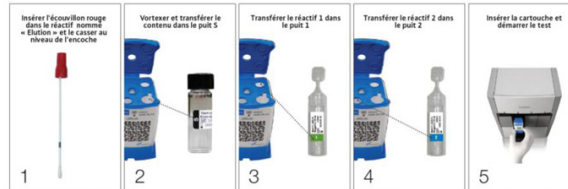
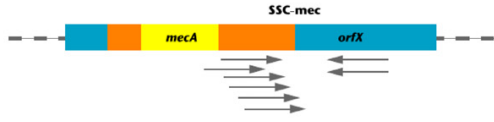


nowpublic.com



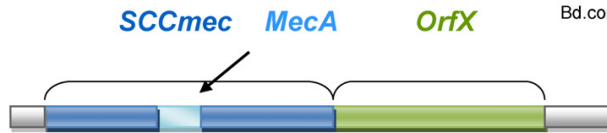
www.bd.com

Xpert MRSA-  
GeneXpert  
Cepheid



TEMPS DE PRÉPARATION 2'

BD GenOhm  
MRSA



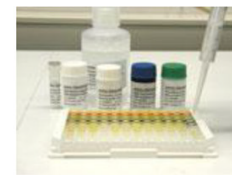
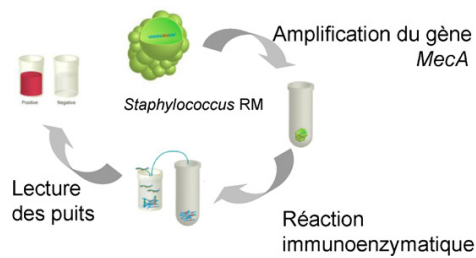
Bd.com



Light Cycler  
Roche



Hyplex StaphyloResist  
PCR (Evigene-I2A)



Hyplex-info.com

Figure 12 : Xpert MRSA test [33]

## IV.5 Approche thérapeutique :

### IV.5.1 SARM et vancomycine, linézolide

A partir du milieu des années 1990, la fréquence des infections à SARM a conduit à l'augmentation des prescriptions de vancomycine chez les patients hospitalisés [34]. La vancomycine inhibe la synthèse de la paroi bactérienne. Elle constitue le traitement de référence des infections à SARM auquel toute nouvelle molécule possédant une activité vis-à-vis du SARM doit être comparée. Pour être efficace, la concentration sérique résiduelle de la vancomycine doit être comprise entre 20 et 30 mg/L [35]. Au cours des dernières années, une augmentation graduelle de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la vancomycine a été observée. De plus, des études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques suggèrent que les posologies habituellement prescrites ne sont pas suffisantes pour atteindre une concentration efficace égale à 4 fois la CMI [36,37]. Ces données ont donc incité le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) à abaisser en 2006 le seuil définissant la résistance à la vancomycine de 4 à 2 mg/L [38]. Malgré cette nouvelle catégorisation, des échecs thérapeutiques sont survenus alors que la bactérie était classée comme sensible à la vancomycine [39]. De plus, la mortalité des infections causées par des SARM ayant une CMI élevée à la vancomycine est plus importante [35]. Lorsque l'émergence de SARM de sensibilité diminuée à la vancomycine a été rapportée [40,41], le mécanisme de résistance impliqué était systématiquement une modification de la cible de l'antibiotique. En effet, la transmission de l'opéron *vanA* des entérocoques aux staphylocoques provoquait un changement de la structure de leur paroi bactérienne [42]. Ces problématiques ont conduit au développement de

nouveaux antibiotiques actifs sur le SARM. Parmi eux, le linézolide. Son mécanisme d'action est d'inhiber la synthèse protéique bactérienne en se liant à l'ARN ribosomal (ARNr) 23S au niveau du site catalytique de la sous-unité ribosomale 50S.

La société américaine d'Infectiologie (IDSA) a publié en 2011 des recommandations spécifiques pour traiter les infections à SARM [43]. Ainsi, le linézolide est recommandé en 1<sup>re</sup> intention ou en traitement alternatif à la vancomycine et à la clindamycine pour les infections suivantes : pneumonie, infections de la peau et des tissus mous, ostéomyélite, arthrite septique, méningite, abcès cérébral, empyème sous-dural, abcès épidual, et thrombose septique du sinus caverneux. Le linézolide possède également une action anti-toxinique [44]. Néanmoins, le rôle de cet effet anti-toxinique dans l'amélioration clinique n'est pas encore clairement établi [45].

En Europe, seul le Royaume-Uni a publié des recommandations pour la prise en charge des infections à SARM [46]. Dans la pneumonie à SARM communautaire sévère, le linézolide ou la vancomycine sont recommandés. La teicoplanine et la daptomycine sont mentionnées uniquement comme solutions alternatives éventuelles. Pour les infections nosocomiales à SARM, le Royaume-Uni recommande l'association linézolide et clindamycine en première intention ; la clindamycine étant ajoutée pour ses effets anti-inflammatoires liés à la diminution de libération de cytokines qui perturbent parfois l'amélioration clinique de la pneumonie à SARM grave.

D'après leur expérience réalisée en 2014 sur des animaux Jacqueline C et al. [47] ont conclu que bien qu'en montrant une activité antibactérienne comparable, le linézolide et la vancomycine ont montré des profils distincts en

termes de statut inflammatoire pulmonaire. Ces données suggèrent que le linézolide, un inhibiteur de la synthèse protéique, pourrait être supérieur à la vancomycine en diminuant une réaction inflammatoire excessive et en protégeant le poumon des dommages associés au SARM [47].

La concentration minimale inhibitrice à la vancomycine (CMI vanco)  $\geq 1,5$  mg/L a été rapportée dans quelques études comme facteur associé à la gravité des bactériémies à *Staphylococcus aureus* (SA). Une Étude prospective monocentrique réalisée entre 2009 et 2011 par Bouiller K et al. [48] Dont l'objectif était d'étudier les facteurs associés au devenir des bactériémies à SA, selon la CMI vanco. Ils ont conclu que La CMI à la vancomycine  $\geq 1,5$  mg/L est associée à la résistance à la méticilline mais pas à la mortalité à 30 jours dans les bactériémies à *Staphylococcus aureus* [48].


#### **IV.5.2 SARM et Fosfomycine**

Dans sa forme di-sodique intraveineuse, la fosfomycine peut être utilisée dans les infections systémiques, elle est utilisée à des posologies variables, allant de 2 à 24 g par jour (habituellement 100 à 200 mg/kg/j), en 3 à 4 injections quotidiennes. Sur le plan pharmacocinétique, de nombreuses études ont rapporté une très bonne diffusion avec des concentrations thérapeutiques dans de nombreux sites (peau et tissus mous, voies aériennes basses, système nerveux central et liquide céphalorachidien, os, bile, valves cardiaques et

biofilms) [49,50]. Un essai contrôlé randomisé est également en cours afin d'évaluer la fosfomycine en association à la daptomycine dans le traitement des bactériémies à SARM [51].

### **IV.5. 3 Trio d'antibiotique contre SARM**

SARM est devenu l'agent le plus courant d'infections acquises à l'hôpital aux USA. Une étude récemment parue dans *Nature Chemical Biology* montre qu'il faut recourir à 3 antibiotiques. L'étude (Gautam Dantas et coll., School of Medicine, Washington University, St. Louis) [52], soutenue par plusieurs instituts spécialisés des NIH, visait à évaluer l'intérêt et l'efficacité d'une approche multidrogues contre le SARM. Pour ce faire ont été sélectionnés des antibiotiques agissant de façon synergique, soit 3 classes de bêtalactamines ayant des cibles antibactériennes différentes (protéines de la paroi, bêtalactamases) : meropénème, pipéracilline et tazobactam, soit la formule ME/PI/TZ. Ce type d'association semble avoir un avenir intéressant contre certaines bactéries antibio résistantes à une seule molécule utilisée isolément. L'équipe a sélectionné une souche de SARM de haute résistance à 23 antibiotiques. La formule ME/PI/ TZ s'est montrée plus efficace que n'importe quelle molécule utilisée isolément ou en duo. L'association triple s'est montrée efficace en laboratoire contre un panel de souches de 72 cas cliniques de SARM. Alors en exposant les bactéries à des doses faibles d'antibiotiques pendant 11 jours, les auteurs n'ont observé aucune résistance à la formule ME/PI/TZ, alors que les autres antibiotiques testés, seuls ou en duo, généraient une résistance en 24 heures à 8 jours. Sur la base de ces résultats, les auteurs ont testé la formule sur des souris infectées par un SARM. Tous les animaux traités ont survécu à l'infection au moins six jours, ce qui correspond, soulignent les auteurs, au résultat obtenu avec le linézolide, un antibiotique coûteux utilisé dans les infections antibiorésistantes. L'analyse du sang des animaux de l'expérience a confirmé que l'infection avait été éradiquée. La conclusion de cette étude est que cette formule antibiotique semble éviter la constitution d'une antibio résistance de SARM [52].



*Enterobacteries*  
*productrices*  
*de beta-lactamases*  
*a spectre ELARGI*

## **V. ENTEROBACTERIES PRODUCTRICES DE BETA-LACTAMASES A SPECTRE ELARGI**

Les *Entérobactéries* sont des bacilles Gram négatif, retrouvées partout dans le sol, dans l'eau et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces.

Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, mobiles avec une mobilité péritriche ou immobiles, asporulés, oxydase négative, réduisant les nitrates en nitrites, fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, culture sur milieux ordinaires et catalase positive sauf le bacille de Shigam ou *Shigella dysenteriae* de type 1.

La famille des *Entérobacteriaceae* comprend 130 espèces actuellement répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella enterica*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*.

### **V.1 Caractères morphologiques**

Ce sont des bacilles Gram négatif de 2 à 3 micromètres de long sur 0,6 de large.

Les *Proteus* sont très polymorphes : formes longues et filamenteuses ou petits bacilles droits.

La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili communs qui sont des facteurs d'adhésion.

## V.2 Différents types de BLSE

### V.2.1 Anciennes BLSE

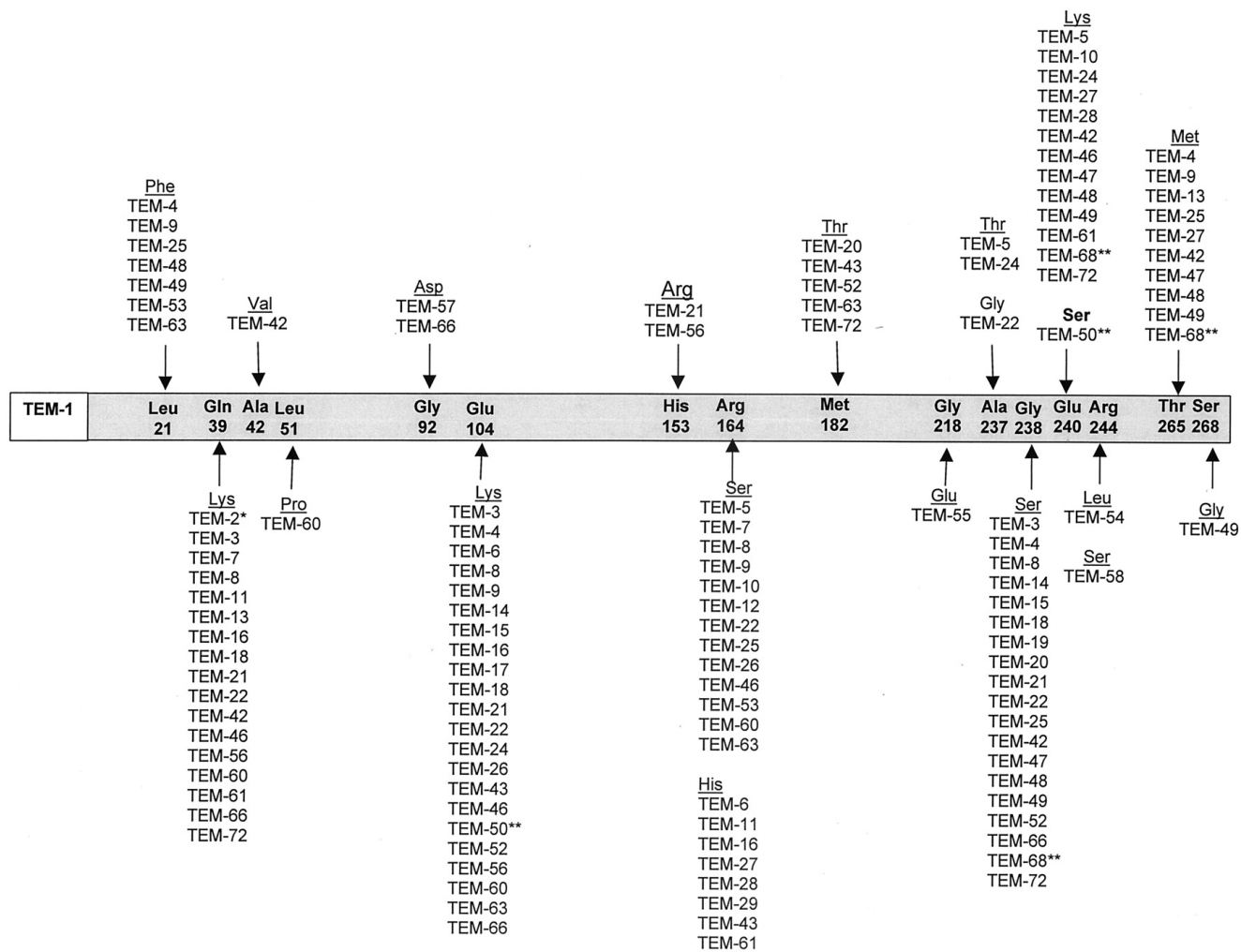
#### V.2.1.1 BLSE de type TEM (Temoneira - nom du patient)

De nombreux dérivés de TEM-1/2 (> 150) ont été décrits à ce jour, dont plus de 100 avec un phénotype de *BLSE*. Bien que fréquemment retrouvées chez

*E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), les *BLSE* de type TEM ont aussi été rapportées parmi les autres membres de la famille des entérobactéries ainsi que *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)[53, 54].

Les mutations responsables de l'élargissement de spectre ont généralement lieu au niveau de 4 «hot spots» de la protéine (positions 104, 164, 238 et 240)[55].

A noter que certains dérivés de TEM (environ 30)(Figure13) ne sont pas des *BLSE* mais présentent une diminution de sensibilité aux I $\beta$ L, ce sont les TRI (pour TEM Résistantes aux Inhibiteurs)[53].



TEM : Temoneira - nom du patient

Figure 13 : La famille des TEMs [56]

### **V.2.1.2 BLSE de type SHV (Sulfhydryl variable)**

Les *BLSE* de type SHV ont été détectées parmi de nombreuses *entérobactéries* (notamment *K.pneumoniae*) mais aussi chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* [53, 54] Comme les dérivés de TEM, les mutations dans SHV-1 (68% d'identité avec TEM-1) ont lieu classiquement au niveau de quelques positions (notamment 238 et 240).

Enfin, le gène codant pour SHV-12 a été décrit en association avec le déterminant plasmidique de résistance aux quinolones, QnrB[57].

## **V.2.2 Nouvelles BLSE**

### **V.2.2.1 BLSE de type CTX-M (Céfotaximase -Munich )**

Ces enzymes hydrolysent préférentiellement le céfotaxime, d'où leur nom de céfotaximases[58]. En effet, les bactéries productrices de CTX-M sont résistantes au céfotaxime (CMI > 64 µg/mL) et plus ou moins sensibles à la ceftazidime (CMI de 2 à 8 µg/mL), tandis que les CMI de l'aztréonam sont variables [55].

Au niveau structural, les CTX-M ne sont pas proches des β-lactamases de type TEM ou SHV (< 40 % d'identité)[58]. A ce jour, de nombreux variants de CTX-M ont été décrits (>50), et sont classés en 6 groupes phylogénétiques distincts : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45 [59].

Les enzymes Toho-1/2, décrites au Japon, sont très proches structuralement des CTX-M et sont donc classées parmi celles-ci [58].

### **V.2.2.2 BLSE de type PER (Pseudomonas extended resistance )**

L'enzyme PER-1 est fréquente chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* mais a aussi été détectée chez *Salmonella enterica* sérovar *Typhimurium*, *Providencia spp.*, *Proteus mirabilis* et *Alcaligenes faecalis* [60].

Une seconde enzyme, PER-2 (86 % d'identité avec PER-1), a été détectée chez *Salmonella enterica* sérovar *Typhimurium* en Argentine, et depuis chez d'autres entérobactéries, *Vibrio cholerae* et *A. baumannii* [60, 61].

### **V.2.2.3 BLSE de type VEB (Vietnam Extended-spectrum Beta-lactamase )**

L'enzyme VEB-1 (38 % d'identité avec PER-1) a été retrouvée chez une souche de *E. coli* isolée chez un patient vietnamien puis chez *P. aeruginosa* en Thaïlande.

Jusqu'à 40 % et 80 % des souches d'entérobactéries et de *P. aeruginosa* résistantes à la ceftazidime produisaient VEB-1 [61]. A ce jour, 4 dérivés de VEB-1 ont aussi été décrits (VEB-2 à VEB-5).

le gène codant pour VEB-1 est souvent localisé au sein d'un intégron et peut donc être associé à d'autres gènes de résistance comme QnrA, déterminant plasmidique de la résistance aux quinolones [61].

#### **V.2.2.4 BLSE de type GES (Guyana Extended-Spectrum Beta-lactamase )**

Les *BLSE* de type GES sont de plus en plus rapportées chez les bacilles Gram négatif, notamment *P. aeruginosa*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. GES-1 a été initialement décrite chez une souche de *K. pneumoniae* [61].

A ce jour, 9 variants différents ont été décrits dont GES-2 en Afrique du Sud, GES-5 à GES-8 (GES-7 = IBC-1 ; GES-8 =IBC-2) en Grèce, GES-3 et GES-4 au Japon, GES-5 en Corée du Sud, en Chine et au Brésil, et GES-9 en France.

Contrairement à la plupart des *BLSE*, GES-1 n'hydrolyse pas l'aztréonam et surtout GES-2 hydrolyse les carbapénèmes en étant moins sensible aux I $\beta$ L. Par une unique mutation [61].

#### **V.2.2.5 BLSE de type OXA (Oxacillinase )**

Bien que les *BLSE* appartiennent souvent à la classe A, plusieurs oxacillinases (classe D et classe 2d) ont des propriétés de *BLSE* [53, 54, 62]. Les  $\beta$ -lactamases de type OXA confèrent la résistance à l'ampicilline et à la céfalotine, et sont caractérisées par une forte activité hydrolytique des pénicillines M (oxacilline, cloxacilline). De plus, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique [54].

La plupart des  $\beta$ -lactamases de type OXA n'hydrolysent pas de façon significative les C3G/C4G mais l'évolution par mutation(s) ponctuelle(s) vers un élargissement du spectre a dû avoir lieu comme pour les dérivés de TEM/SHV. Les  $\beta$ -lactamases de type OXA représentent une famille phylogénétiquement très hétérogène et les *BLSE* de type OXA dérivent de OXA-10, de OXA-13, de OXA-2 ou sont non reliées (OXA-18, -45).

Bien que la plupart des BLSE dérivées de OXA-10 confèrent une résistance plus élevée au céfotaxime, les activités enzymatiques des BLSE de type OXA sont très variables. Les *BLSE* de type OXA sont principalement retrouvées chez *P. aeruginosa*, mais ont aussi été détectées chez d'autres bacilles Gram négatif dont les entérobactéries [54, 61].

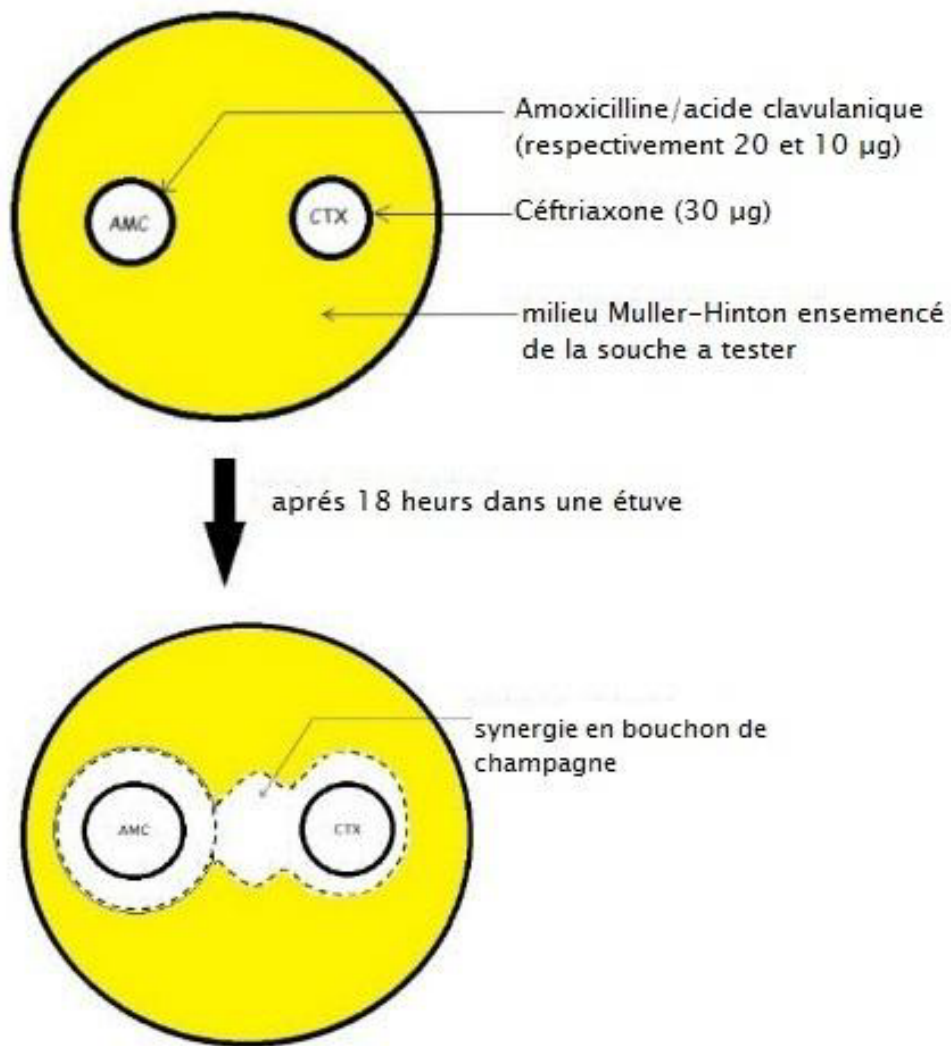
### **V.3 Détection des BMR chez les entérobactéries**

#### **V.3.1 Détection des *E-BLSE***

##### **➤ Test de synergie « double disque »**

Ce test qualitatif, de très faible coût, peut être réalisé directement sur l'antibiogramme. Il consiste à détecter une synergie entre un disque contenant une C3G et un disque contenant de l'acide clavulanique distants l'un de l'autre de 30 mm, la présence d'une *BLSE* s'exprimant par l'apparition d'une synergie en bouchon de champagne. L'hydrolyse des C3G n'étant pas équivalente pour toutes les BLSE, il faut tester plusieurs C3G.

SI la souche productrice d'une *BLSE* produit aussi une autre bêta-lactamase capable d'hydrolyser les C3G (hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique), la détection de l'image de synergie peut être facilitée par le rapprochement des disques de C3G et du disque d'acide clavulanique ou par la réalisation d'un antibiogramme sur gélose de Mueller-Hinton additionnée de 250 mg/L de cloxacilline qui est un inhibiteur spécifique de céphalosporinase (Figure 14-15-16) [63].



**Figure 14:** Réalisation d'un test de synergie [64].

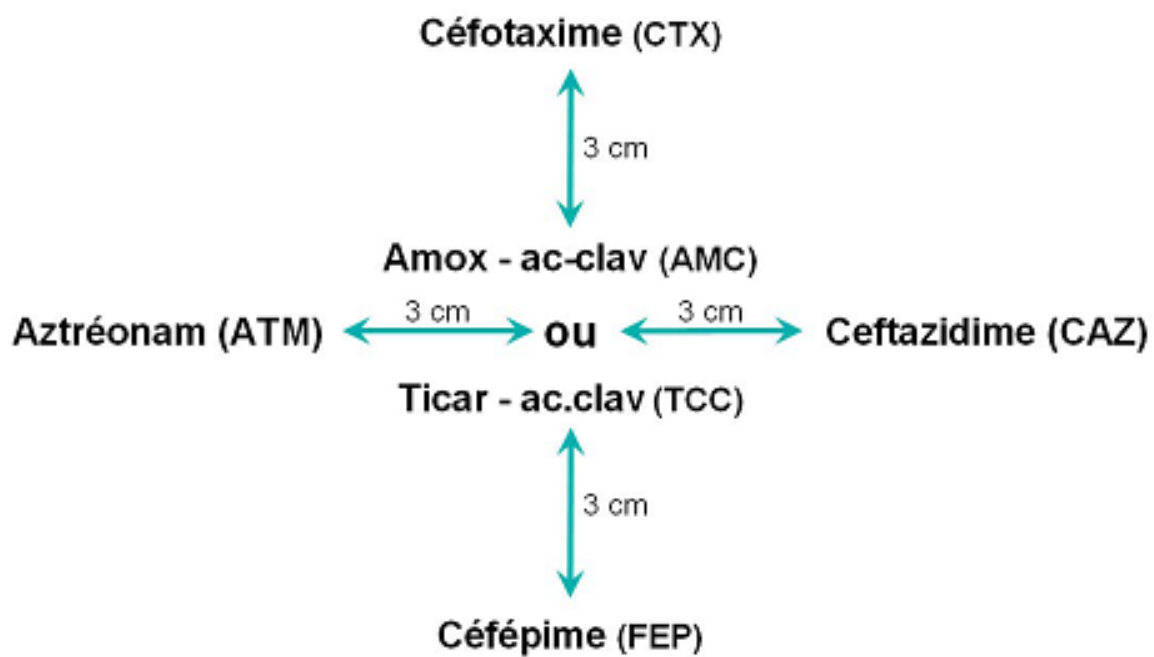


Figure 15 : Disposition des disques [65]

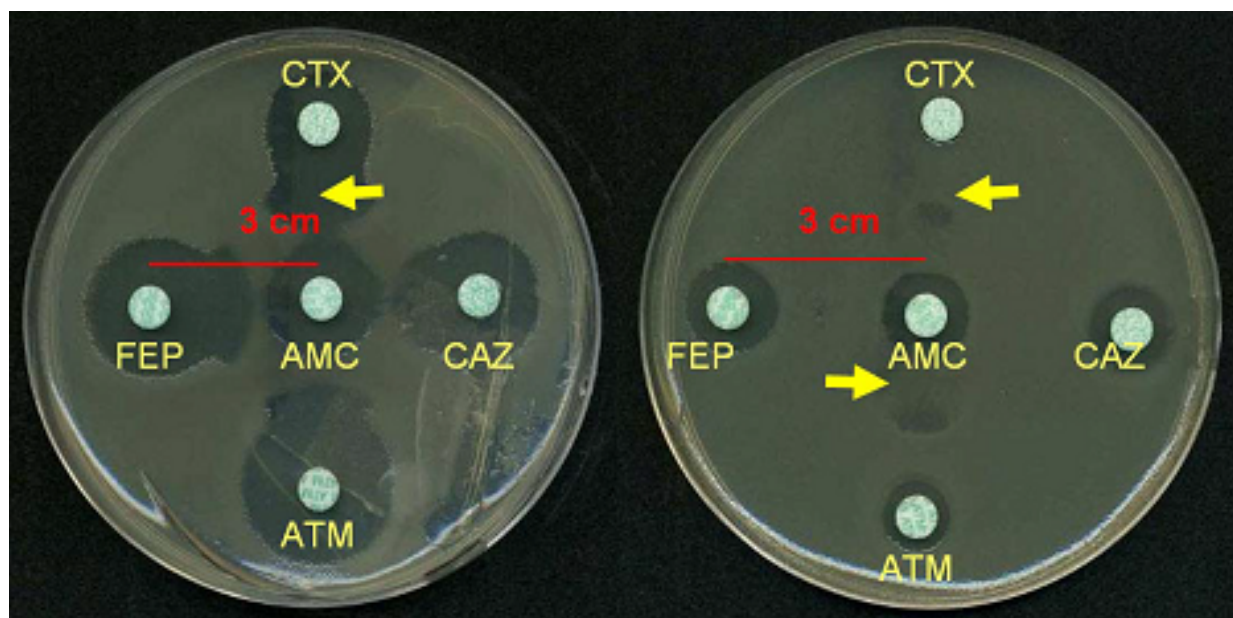


Figure 16 : Escherichia coli BLSE [65]

➤ **Disques combinés**

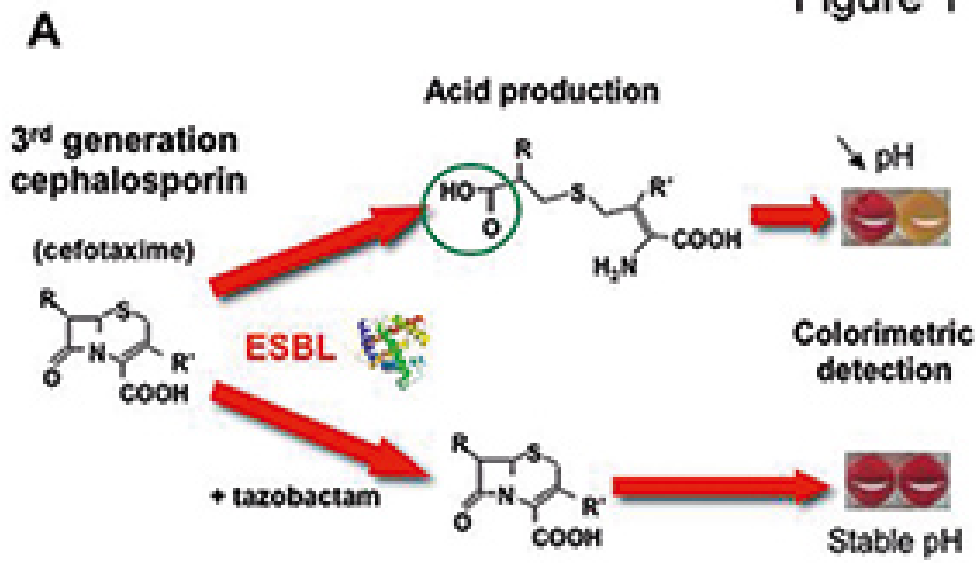
Cette méthode consiste à placer sur une gélose Mueller-Hinton 2 préalablement inoculée avec une suspension bactérienne ajustée à 0.5 Mac Farland, 2 couples d'antibiotiques ; un disque de CTX en regard d'un disque de CTX / acide clavulanique à une distance de 25 mm (centre à centre), et un disque de CAZ en regard d'un disque de CAZ / Acide clavulanique (même distance). Une augmentation  $\geq$  à 5 mm du diamètre d'inhibition des disques contenant l'acide clavulanique par rapport à ceux qui n'en contiennent pas, est en faveur de la présence d'une BLSE [66].

➤ **BLSE NDP test** (Nordmann/Dortet/Poirel test )

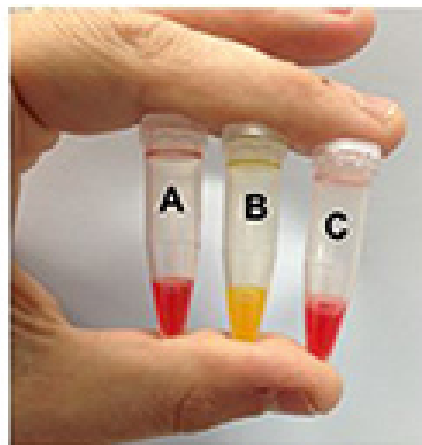
Un test de détection biochimique a récemment été mis au point. Ce test est basé sur la détection colorimétrique de l'hydrolyse du cefotaxime, inhibée en présence de tazobactam.

Ce test rapide (< 20 min) permet de détecter la majorité des BLSE à partir des colonies développées sur milieux usuels. La spécificité de ce test est excellente (100 %) et la sensibilité est variable selon la classe de BLSE produite (50 à 85 %) (Figure 17) [63].

Figure 1



**B**



- A : no antibiotic**
- B : cefotaxime**
- C : cefotaxime + tazobactam**

**ESBL-producing *E. coli***

**Figure 17:** A : Principe du test BLSE NPD . B. Résultats représentatifs de l'épreuve BLSE NPD . Le test ESBL NDP a été effectuée avec *E. coli* produisant la  $\beta$  - lactamase à spectre étendu CTX -M- 15 . après 15mn d'incubation

### ➤ **Détection moléculaire des E-BLSE**

La détection moléculaire de la production d'une *BLSE* est basée sur des techniques de PCR utilisant des amorces spécifiques des différentes familles de BLSE suivi d'un séquençage du produit amplifié [63].

Le coût élevé de ces techniques et le fait qu'elles ne recherchent que les gènes des BLSE connues limite leur utilisation en routine.

### **V.3.2 Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC)**

De nouvelles résistances ont émergé au sein des entérobactéries, la plus inquiétante étant la production de carbapénémase.

Ces carbapénémases sont capables d'hydrolyser la quasi-totalité des  $\beta$ -lactamine y compris les carbapénèmes. Comme pour les E-BLSE, les EPC sont très souvent résistantes à de nombreuses autres familles d'antibiotiques limitant encore les possibilités thérapeutiques [63].

### ➤ **Détection des carbapénémases**

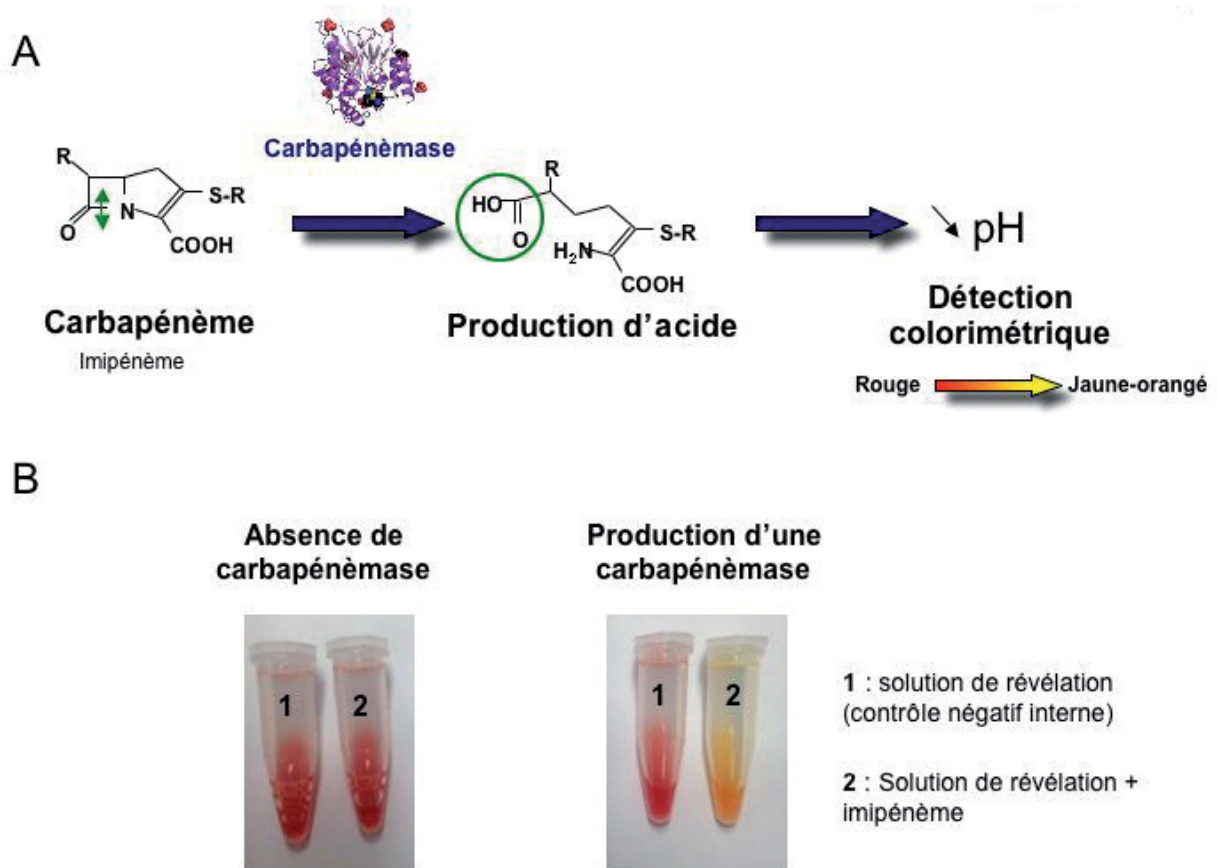
L'ertapénème est le carbapénème le plus sensible pour la détection des EPC car la CMI observée est souvent la plus forte au sein des carbapénèmes. La production d'une carbapénémase doit donc être suspectée pour toute diminution de sensibilité à l'ertapénème (diamètre d'inhibition inférieur à 28 mm ou CMI supérieure à 0,5 mg/L) [63].

➤ **Détection biochimique (Carba NP test) (Carba Nordmann-Poirel test)**

Le principe de ce test repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. L'indicateur de pH change de couleur (du rouge au jaune) lorsque le milieu devient acide, traduisant la présence d'une carbapénémase. Ce test a été largement évalué au sein du CNR (Centre National de Référence) (> 4000 souches d'entérobactéries de sensibilité diminuée aux carbapénèmes). Il possède une excellente spécificité et une excellente sensibilité [67, 68] .

Le Carba NP test est réalisé directement à partir des colonies ayant poussé sur l'antibiogramme ou sur milieu sélectif (à l'exception du milieu de Drigalski) et les résultats sont obtenus en moins de 2 heures (fig 18).

Ce test est peu onéreux, simple, très sensible (100 %) et très spécifique (100 %).



**Figure 18** : - A. Principe du Carba NP test. B. Résultats du Carba NP test avec une souche ne produisant pas de carbapénèmase (*E. coli* produisant la BLSE CTX-M-15, panel de gauche) et avec une souche produisant une carbapénèmase (*K. pneumoniae* produisant KPC-2, panel de droite). Les tubes 1 et 2 contiennent la souche à tester et, respectivement, du milieu réactionnel (tube 1) ou du milieu réactionnel supplémenté avec de l'imipénème (tube 2). La photographie a été réalisée après 1 h d'incubation à 37°C [69].

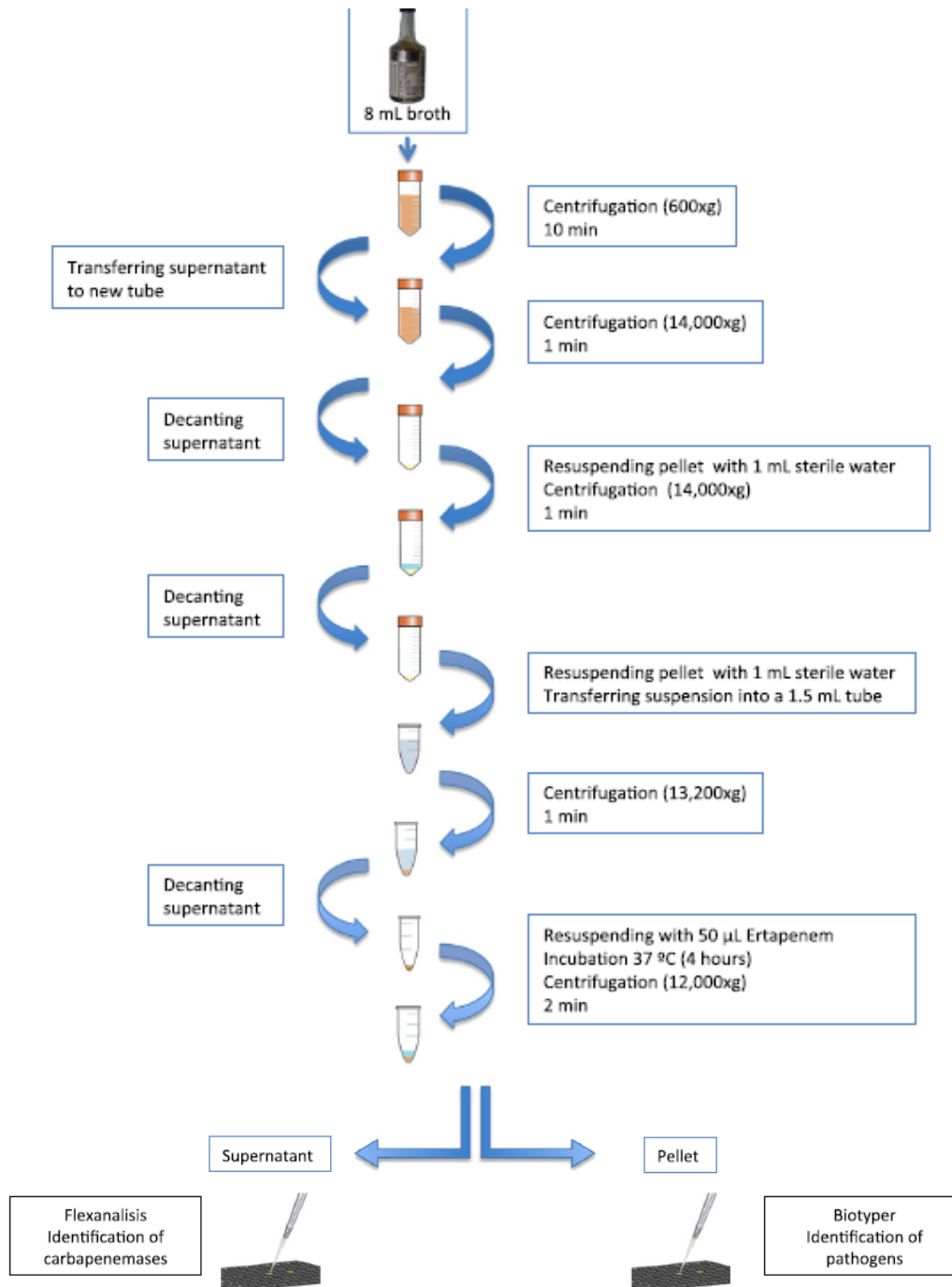
### ➤ Spectrométrie de masse : MALDI-TOF

MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption ionisation-time of flight) nécessite une mise au point fine, du personnel particulièrement entraîné et un spectromètre de masse (système ouvert).

L'activité carbapénémase peut être recherchée par spectrophotométrie de masse, après mise en contact pendant quelques heures (en général 2-3h) de la souche à tester avec une solution de carbapénème. La mesure de la diminution d'absorbance au cours du temps signe l'hydrolyse de l'antibiotique et donc la présence d'une carbapénémase.

Cette méthode est efficace pour identifier la production des carbapénémases chez les entérobactéries. De plus, les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases peuvent être ajoutés à l'incubation pour déterminer leur efficacité contre les souches mises à l'essai. Cependant, cette méthode ne peut pas détecter la présence de  $\beta$ -lactamases comme mécanisme de résistance. D'autres méthodes mises en œuvre MALTI-TOF MS sont nécessaires pour détecter la présence des pompes à efflux ou des changements dans les porines ou des PLPs [70].

Cette technique rapide, spécifique et sensible, requiert un équipement coûteux et une bonne expertise technique (Fig 19).



**Figure 19 :** Protocole pour la détection et l'identification des souches portant carbapénèmases directement à partir de cultures de sang supplémentés en utilisant MALDI -TOF MS [71].

### ➤ Test de Hodge modifié

La version modifiée du test de Hodge, test phénotypique initialement mis au point pour permettre la détection de pénicillinases, est largement utilisée pour la détection des carbapénémases (Fig 20) [64].

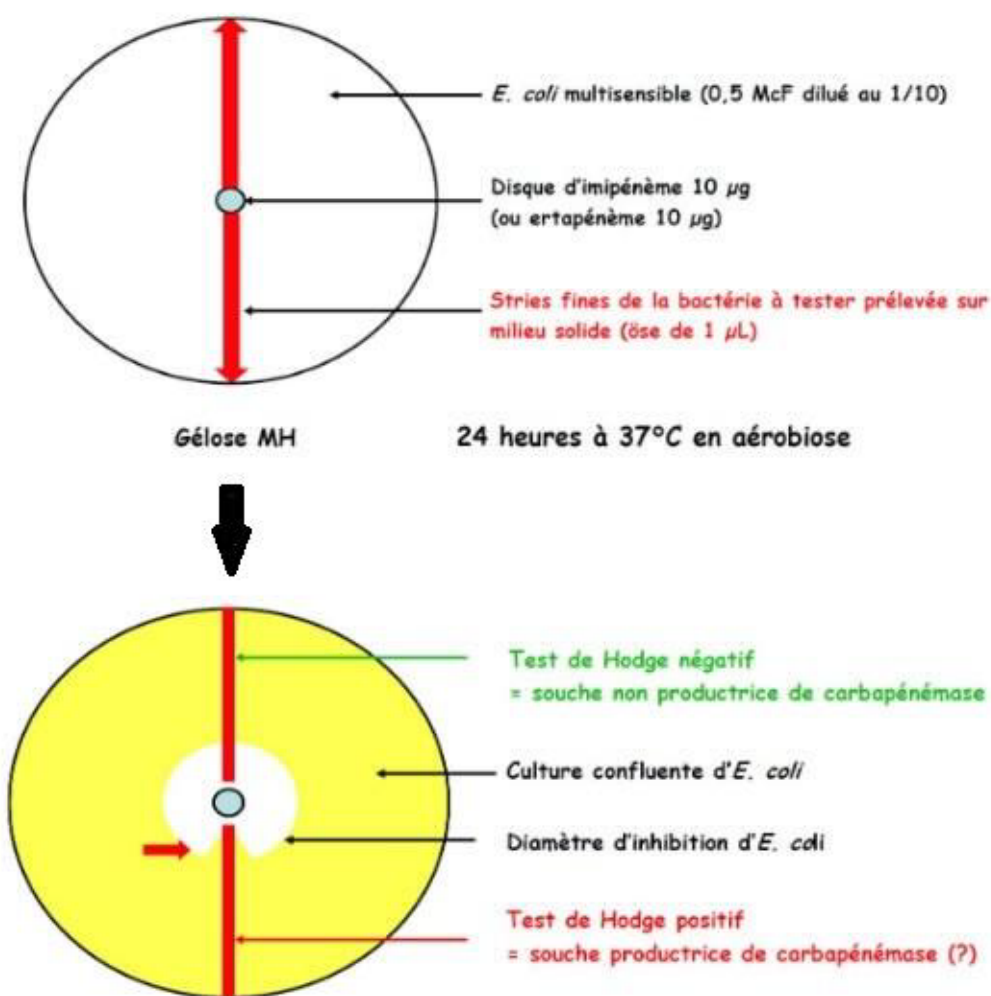


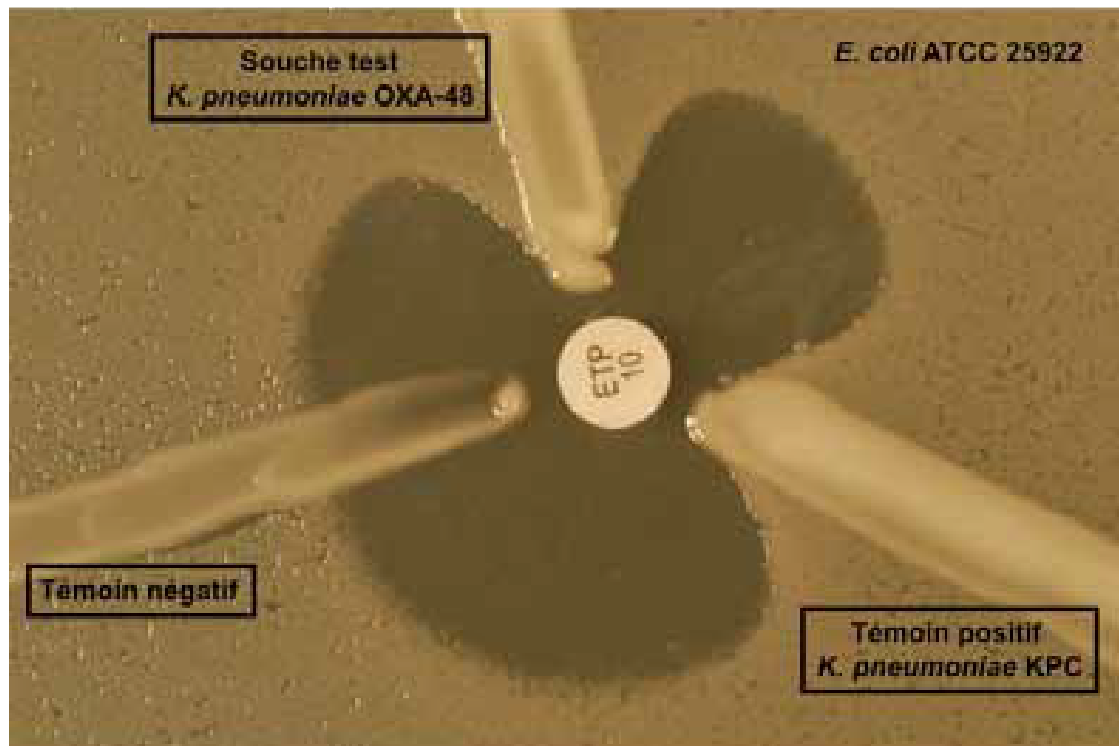
Figure 20: Réalisation d'un test de Hodge modifié [64]

Ce test consiste à ensemencer en culture confluyente (à l'aide d'un écouvillon) une dilution au 1/10ème d'une suspension de Densité Optique (DO) = 0.5 Mc Farland de la souche *Escherichia coli* ATCC 25922 sur une gélose Muller Hinton. Ensuite, un disque d'imipénème chargé à 10 µg est déposé au centre de la boîte et chaque souche testée est ensemencée de manière radiale à partir du disque jusqu'au bord de la boîte de Pétri. La présence d'une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème au contact de la souche testée est interprétée comme un résultat positif après incubation pendant 18 h à 37°C [64].

Ce test simple, peu onéreux est efficace pour la détection des carbapénémases de type KPC (classe 1) et OXA-48 (classe D).

Le test de Hodge modifié repose sur l'utilisation d'un disque d'ertapénème 10 µg (plus indiqué que imipénème, cf ci-dessus) et la souche de référence sensible *Escherichia coli* ATCC 25922 ensemencée par écouvillonnage sur gélose Müeller-Hinton à l'aide d'une suspension à 0,5 McFarland diluée au 1/10<sup>e</sup> [72]. Les souches test suspectées de produire une carbapénémase et des souches témoins (ex. : témoin positif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 productrice de carbapénémase KP-2 et témoin négatif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 non productrice de carbapénémase) sont ensemencées en strie depuis le disque vers le bord de la gélose sur une longueur d'au moins 20 mm. Le test est interprétable en cas de déformation de la zone d'inhibition de la souche de référence le long de la strie de la souche témoin +. Si une déformation semblable est observée avec la souche test suspecte, celle-ci peut-être considérée comme productrice d'une carbapénémase. Le test ne permet pas de donner une orientation sur la classe à laquelle appartient la carbapénémase [72]. Le test de

Hodge peut parfois être faussement négatif, notamment avec les souches productrices de carbapénèmases de type NDM-1. L'ajout de ZnSO<sub>4</sub> (100 µg/ml) dans le milieu permet d'augmenter très notablement la sensibilité du test dans ce cas. Un test d'inhibition par des inhibiteurs spécifiques des β-lactamases de classe B (EDTA ou acide dipicolinique, cf.ci-dessus) est également utile dans ce cas. Le test de Hodge peut parfois être faussement positif pour les souches ayant un défaut d'accumulation des carbapénèmes associé à la production de céphalosporinases et/ou de BLSE. La réalisation du test de Hodge modifié en ajoutant de la cloxacilline sur le disque d'ertapénème (déposer 10 µl d'une solution aqueuse à 75 mg/ml de cloxacilline sur le disque d'ertapénème) permet d'éliminer les faux positifs liés à la production de céphalosporinase. La méthode de référence pour la détection des carbapénèmases est l'amplification du gène codant pour la carbapénémase (Fig 21) [72].



**Figure21:** Test de Hodge modifié pour la détection des carbapénèmases [73].

La production de carbapénémase est objectivée par une déformation de la zone d'inhibition autour d'un disque d'ertapénème (ETP) de la souche de référence Escherichia coli ATCC 25922 le long des stries correspondant au témoin positif (T+, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 produisant la carbapénémase KPC-2) et à la souche test (ici *K. Pneumoniae* produisant

OXA-48). La zone d'inhibition de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 reste inchangée au contact de la strie correspondant un témoin négatif (T-, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706).

➤ **Bandelettes combinées E-test®**

La bandelette E-test® combinée (E-test® MBL, bioMérieux), comprenant un gradient de concentration d'un carbapénème avec et sans EDTA, est une des méthodes préconisées pour la mise en évidence des métallo- $\beta$ -lactamases. Cette technique utilise l'imipénème et l'association imipénème / EDTA de chaque côté de la bandelette (Fig 22). L'EDTA contenu d'un côté de la bandelette inhibe les enzymes de classe B (métallo- $\beta$ -lactamases) en chélatant les ions métalliques. Si après incubation, le ratio entre la CMI avec l'inhibiteur et la CMI sans l'inhibiteur est supérieur ou égal à 8, la souche est considérée comme productrice de métallo- $\beta$ -lactamases.



**Figure 22:** E-test® MBL IP/IPI : imipénème  $\pm$  EDTA [bioMérieux] [74]

Cette méthode est efficace pour la détection des producteurs de métallo- $\beta$ -lactamases présentant une forte résistance, mais elle peut échouer quant à la détection de souches produisant une métallo- $\beta$ -lactamases présentant un bas niveau de résistance à l'imipénème (de faux négatifs ont été rapportés pour des souches ayant une CMI de l'imipénème supérieures ou égales à 4 mg/L) [75]. De plus, l'EDTA peut avoir une activité antibactérienne intrinsèque chez certaines souches (en augmentant la perméabilité de la membrane externe) et ainsi être à l'origine de faux positifs ou gêner la lecture du test [73, 76].

### ➤ **Test d'inhibition**

Les tests d'inhibition reposent sur l'augmentation de sensibilité aux carbapénèmes en présence d'inhibiteurs spécifiques de bêta-lactamases.

Ces inhibiteurs sont l'acide boronique ou l'acide clavulanique pour les enzymes KPC de classe A et de l'EDTA ou l'acide dipicolinique pour les métallo- $\beta$ -lactamases.

Il n'existe pas de test d'inhibition spécifique des carbapénémases de classe D (OXA-48).

Plusieurs tests sont commercialisés (E-test MBL, bioMérieux ; disque MBL, Bio-Rad ; kit carbapénémase, Rosco) [63].

Les tests d'inhibition reposent sur l'augmentation du diamètre d'inhibition autour d'un disque combinant un carbapénème (méro-pénème ou imipénème) et un inhibiteur ou la diminution de la CMI de ces molécules en présence d'inhibiteurs spécifiques de  $\beta$ -lactamases [77]:

- EDTA ou acide dipicolinique pour les enzymes de classe B
- acides boroniques (ex. : acide para-amino-phenyl boronique) pour les enzymes KPC de classe A. En testant les carbapénèmes sur un milieu contenant de la cloxacilline (inhibiteur de céphalosporinase) et, comparativement sur un milieu sans cloxacilline, on peut détecter une résistance aux carbapénèmes non liée à la production d'une carbapénémase mais à l'association de céphalosporinase et de défaut d'accumulation des carbapénèmes, qui se traduit par une augmentation importante des diamètres d'inhibition sur le premier milieu. Il faut signaler que certains des inhibiteurs ci-dessus cités manquent de spécificité : les acides boroniques peuvent inhiber des céphalosporinases et l'EDTA peut avoir une activité antibiotique intrinsèque sur certaines souches. A ce jour, il n'existe pas de test d'inhibition spécifique des carbapénémases de classe D (ex. OXA-48) [77].

➤ **Détection moléculaire des Entérobactéries productrices de carbapénémases**

La détection moléculaire de la production d'une carbapénémase est basée sur des techniques de PCR utilisant des amorces spécifiques des différentes familles d'enzymes, complétée ou non par une technique de séquençage de l'ADN amplifié (utile uniquement à des fins épidémiologiques) [63].

Ces techniques permettent de détecter simultanément au sein d'une même souche la présence de gènes codant pour diverses bêta-lactamases dont les grandes classes de carbapénémases.

Ce test ne détecte que les gènes recherchés; à utiliser en seconde intention après identification de l'activité carbapénémase [63].

➤ **Dépistage des patients porteurs d'EPC**

Le dépistage d'EPC doit être réalisé dès l'admission chez tout patient rapatrié d'un pays étranger où ayant été hospitalisé dans un pays étranger dans l'année précédant son admission. En cas de rapatriement sanitaire, il ne devrait pas y avoir de passage du patient aux urgences.

Le dépistage est réalisé à partir d'un écouvillonnage rectal (ou des selles).

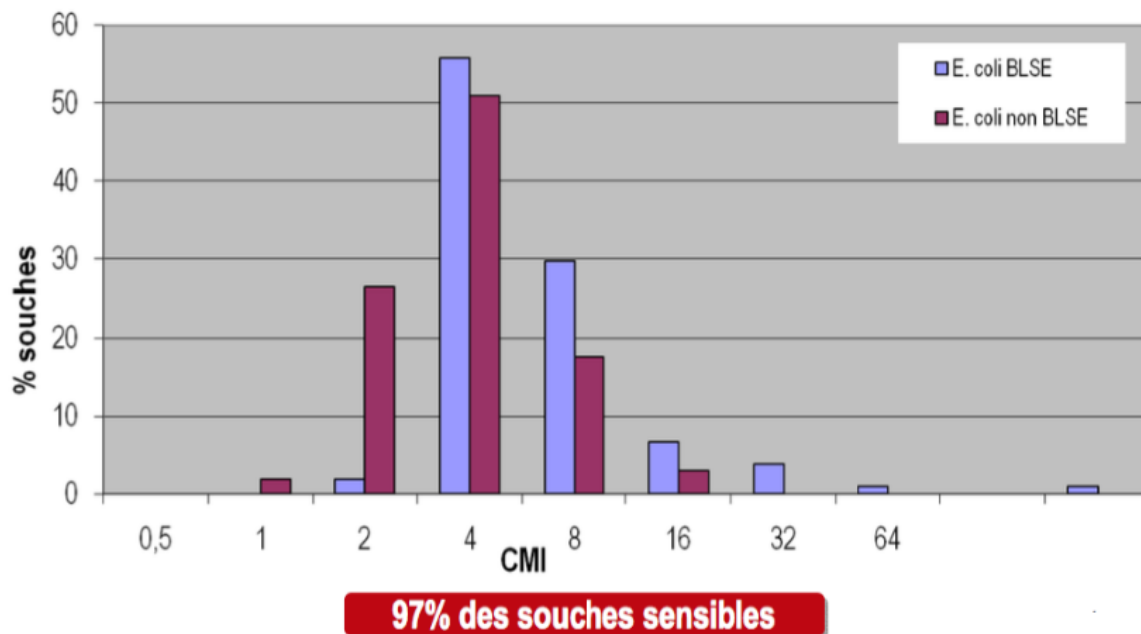
Les écouvillons sont déchargés sur des géloses sélectives +/- chromogéniques contenant un carbapénème (Brilliance CRE-Oxoid, CHROMID Carba bioMérieux, CHROMagar KPC [63].

## V.4 Approche thérapeutique des entérobactéries

### V.4.1 Approche thérapeutique des E-BLSE

#### V.4.1.1 Intérêt de la témocilline

La témocilline est un dérivé semi-synthétique 6- $\alpha$ -méthoxylé de la ticarcilline commercialisé en Belgique et au Royaume-Uni pour le traitement parentéral d'infections urinaires, respiratoires ou de bactériémies à germes sensibles. Cette modification structurale lui confère une stabilité à l'hydrolyse par la plupart des  $\beta$ -lactamases, y compris les bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) et les céphalosporinases de type AmpC et réduit son spectre d'activité aux entérobactéries. Elle est également reconnue comme médicament orphelin pour le traitement d'infection respiratoire due au complexe *Burkholderia cepacia*. Les CMI<sub>90</sub> des entérobactéries s'échelonnent de 8 à 32mg/L (Fig 23). par contre, elle a une résistance naturelle aux *P. aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter spp*, *Clostridium difficile*, coques gram positif, BGN Anaerobies stricts. Sa demi-vie plasmatique prolongée autorise une administration biquotidienne. La posologie optimale semble de 2g/12heures mais pourrait être augmentée au vue de l'absence d'effet secondaire majeur à des doses supérieures. À l'heure de la diffusion communautaire des *E. coli BLSE* et de l'émergence des entérobactéries productrices de carbapénèmases, des études rétrospectives indiquent que la témocilline pourrait constituer une thérapeutique ciblée épargnant les carbapénèmes [78].



**Figure 23** : efficacité de la témocilline sur l'E. coli BLSE, sensibilité > 97% pour des CMI > 16 mg/l 16ème JN1, Nancy, 10 au 12 Juin 2015 [79]

#### V.4.1.2 BLSE et les C3G et l'aztréonam

Des valeurs inférieures ou égales à 1 mg/L pour les CMI des C3G (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime ou céfépime) et de l'AZT sont observées vis-à-vis des entérobactéries dites de phénotype sauvage (absence de mécanisme de résistance acquise) mais peuvent aussi l'être, pour certaines C3G, vis-à-vis de souches d'entérobactéries ayant acquis des mécanismes de résistance aux bêta-lactamines. Cela revient à dire que la valeur de la CMI des différentes C3G et de l'AZT est dépendante de la nature du mécanisme de résistance acquise aux bêta-lactamines, notamment du type bêta-lactamases qui est le principal mécanisme de résistance aux bêta-lactamines chez les entérobactéries. Pour exemple peuvent être citées :

- la bêta-lactamase chromosomique de *Klebsiella oxytoca* qui bien qu'hyperproduite et quel que soit l'inoculum bactérien n'hydrolyse pas la ceftazidime mais hydrolyse la ceftriaxone, le céfotaxime, le céfépime et l'AZT [80] .
- ou la céphalosporinase chromosomique hyperproduite de *l'Enterobacter cloacae* qui n'hydrolyse pas le céfépime mais le céfotaxime, la ceftriaxone, la ceftazidime et l'AZT [81].

L'usage des C3G non hydrolysées par les bêta-lactamases citées pour le traitement d'infections dues à ce type de souches de *K. oxytoca* ou de *E. cloacae* est classique.

Concernant les BLSE de type CTX-M qui sont dorénavant dominantes au sein des BLSE produites par les entérobactéries, différents profils d'hydrolyse des C3G sont observés, résultant en différentes valeurs des CMI des C3G et différents phénotypes de résistances aux C3G. Toutes les CTX-M hydrolysent fortement le céfotaxime et la ceftriaxone mais seulement certaines CTX-M (CTX-M-15, CTX-27) hydrolysent aussi la ceftazidime. Cette activité hydrolytique différentielle se traduit par des valeurs différentielles des CMI des C3G. ainsi les CMI du céfotaxime et de la ceftriaxone supérieure à 1 mg/L sont observés pour toutes les souches productrices de CTX-M alors que les CMI de la ceftazidime supérieure à 1 mg/L sont rencontrés uniquement pour celles productrices de certaines CTX-M (15 et 27) [82].

Depuis 2011, le clinicien se trouve dans une situation totalement différente de la situation antérieure. En effet jusqu'en 2011, du fait d'une lecture interprétative de l'antibiogramme, les C3G et l'AZT ne faisaient jamais partie des bêta-lactamines potentiellement disponibles pour le traitement des infections

invasives à *entérobactéries productrices de BLSE*, alors que maintenant il est possible de les utiliser. Cette nouveauté intervient dans une conjoncture où, étant donné l'émergence récente des souches résistantes aux carbapénèmes, il est fortement encouragé, voire recommandé, d'éviter l'usage massif des carbapénèmes, molécules qui avant 2011 étaient en première ligne pour le traitement des infections sévères à entérobactéries productrices de BLSE [83]. Se pose donc au clinicien la question de savoir pour quels patients et quels types d'infections il peut utiliser les C3G et l'AZT sans risque d'échec thérapeutique. La littérature clinique disponible permettant de répondre à cette question est très pauvre, reposant pour l'essentiel sur des modèles animaux, de petites séries souvent rétrospectives ou des cas cliniques [84].

#### **V.4.1.3 E BLSE et la fosfomycine :**

Les souches d'entérobactéries isolées dans les infections urinaires basses et plus rarement dans les infections pulmonaires en France restent sensibles à la fosfomycine dans près de 100 % des cas [88]. Les données disponibles dans différents autres pays confirment un taux de sensibilité à la fosfomycine parmi les isolats de *E. coli* isolés d'urines de plus de 98 % [89,90,91,91,130]. De plus, les souches de *E. coli* sécrétrices de BLSE restent également le plus souvent sensibles à la fosfomycine, avec des taux de sensibilité supérieurs à 80 % dans la majorité des études [86,93,94,95]. D'après les données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques [ONERBA], sur 51 643 souches d'*E. Coli* isolées d'infections urinaires communautaires en France en 2013, la sensibilité à la fosfomycine était de 98,9 % parmi les non-productrices de BLSE et de 93,7 % parmi les BLSE [85]. Les taux de sensibilité à la fosfomycine rapportés chez les souches de *K. pneumoniae* productrices de

BLSE sont généralement plus variables, allant de 40 % à 95 % , et relativement plus faibles que chez *E. coli* (81,3 % et 96,8 % respectivement dans une revue reprenant les résultats de 17 études) [95]. Parmi les autres entérobactéries, les taux de sensibilité à la fosfomycine sont rarement rapportés, mais restent généralement supérieurs à 70 %. Au final, la fosfomycine est active contre plus de 90 % des entérobactéries multirésistantes [92,101]. *Proteus mirabilis* semble être l'espèce d'entérobactérie pour laquelle les taux de susceptibilité semblent être les plus faibles [102,103]. Parmi les entérobactéries (principalement *K. pneumoniae*) résistantes aux carbapénèmes, les taux de sensibilité à la fosfomycine observés sont plus variables et relativement moins élevés, allant de 40 à plus de 90 % [86,87,104,105, 106].

#### **V.4.1.4 E. BLSE et les Quinolones:**

Le principal problème lié à l'utilisation des quinolones est l'émergence puis l'augmentation de la prévalence de la résistance acquise chez les bactéries responsables d'infections en particulier les entérobactéries ( 10 % chez *E. coli*, et 15 à 20 % chez les entérobactéries [251]) qui sont les premières bactéries figurant dans le spectre d'activité de ces antibiotiques.

- La résistance aux quinolones fait intervenir différents mécanismes [107,108]. Les mécanismes les plus fréquents et les mieux connus sont les modifications des cibles, l'ADN gyrase et/ou la topo-isomérase IV, par mutation ponctuelle entraînant une substitution d'acide aminé. Ces mécanismes entraînent une résistance à toutes les quinolones.
- D'autres mécanismes liés à un défaut d'accumulation dans la bactérie, soit par une diminution de la pénétration de la paroi, soit par un efflux important de quinolones. Ce mécanisme entraîne une résistance surtout pour les quinolones les plus hydrophiles, et de plus

entraîne une résistance aussi (résistance croisée) à d'autres antibiotiques qui ont les mêmes voies de pénétration ou d'efflux (aminosides, bêtalactamines, tétracyclines, chloramphénicol).

- Il a été récemment découvert un nouveau mécanisme de résistance aux quinolones qui a une transmission plasmidique. La première souche a été décrite en 1998 [109] chez *Klebsiella pneumoniae*. Il a été ensuite montré que le plasmide de résistance (pMG252) [110] contenait le gène *qnr* codant pour une protéine (quinolone resistance : QNR) de 218 acides aminés appartenant à la famille des protéines à motifs penta-peptidiques répétés. La protéine QNR entrerait en compétition avec les quinolones pour l'accessibilité de l'ADN gyrase [111], et peut être aussi de la topo-isomérase IV [111]. La protéine QNR a aussi une homologie de structure avec McbG qui est une protéine présente chez certaines bactéries productrices de bactériocines et connue pour avoir une action « antidote » de la microcine B17, peptide bactéricide ayant pour cible, comme les quinolones, l'ADN gyrase [112].

Sur le plan phénotypique, la résistance conférée par *qnr* est de bas niveau (CMI de la ciprofloxacine = 0,1 mg/L) difficilement détectable par l'antibiogramme, d'autant plus qu'elle peut s'ajouter à la résistance liée aux autres mécanismes (efflux, mutation de l'ADN gyrase et de la topo-isomérase IV) [113,114]. Les souches porteuses du gène *qnr* appartenait le plus souvent aux espèces *E. coli*, *K. pneumoniae* et récemment *E. cloacae* [115], et sont toutes multirésistantes, en particulier résistantes aux céphalosporines de troisième génération par production de bêtalactamase à spectre étendu (BLSE) (ex. SHV-7) ou de céphalosporinase plasmidique .

D'après une étude réalisée sur 737 souches d'entérobactéries isolées à l'hôpital Henri-Mondor entre janvier 2002 et mai 2005 en testant les souches résistantes aux quinolones et les souches multirésistantes BLSE , Toutes les souches qnr-positives sont résistantes à de nombreux antibiotiques. Elles ont toutes un phénotype de BLSE, avec une résistance aux céphalosporines de troisième génération. Les souches étaient toutes sensibles à l'imipénème. La résistance aux aminosides est différente selon les souches, et elles sont toutes résistantes au cotrimoxazole. Bien que les souches soient toutes résistantes aux quinolones, le niveau de résistance est différent selon les souches[116].

#### **V.4.1.5 E BLSE et les carbapénèmes:**

L'extraordinaire succès des carbapénèmes vient de leur très large spectre antibactérien doublé d'une grande stabilité envers Les entérobactéries y compris les souches BLSE ou celles du groupe III productrices de céphalosporinase à haut niveau. Leur spectre antibactérien est pratiquement le même pour toutes les molécules à l'exception notable de l'ertapénème qui n'a qu'une activité marginale sur le *P. aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* [117,119]. Alors que l'imipénème, le doripénème et le méropénème ont une activité comparable sur ces deux germes. En général, les CMI d'imipénème vis-à-vis des entérobactéries sont plus élevées que celles des trois autres molécules.

Comme toutes les bêta-lactamines, à l'exception de l'association ticarcilline-acide clavulanique, les carbapénèmes n'échappent pas à l'hydrolyse induite par les métallo-lactamases de *Stenotrophomonas maltophilia*. Les quatre molécules sont très actives sur l'ensemble des bactéries anaérobies à Gram positif ou à Gram négatif , et en association avec l'amikacine, sur *Nocardia spp* (Tableau III et IV) [120]. Les carbapénèmes doivent être adaptés au foyer infectieux en fonction de la distribution tissulaire, par exemple :

• **Les pneumonies nosocomiales** : Dans un essai récent, le doripénème était supérieur à l'imipénème dans le sous groupe de pneumonies à *P. aeruginosa*, ce résultat étant probablement en partie expliqué par le fait que toutes les souches étaient initialement sensibles au doripénème contre 76 % seulement à l'imipénème [121]. Les carbapénèmes font partie des  $\beta$ -lactamines recommandées pour le traitement des pneumonies nosocomiales tardives ou chez des patients déjà sous antibiotiques [122].

• **Infections abdominales compliquées** : Le spectre anti-bactérien des carbapénèmes fait de ces molécules de bons candidats pour le traitement des infections abdominales compliquées, notamment des péritonites communautaires pour l'ertapénème et des péritonites postopératoires et nosocomiales pour les autres molécules. La durée de traitement est généralement voisine de 8 jours. Les carbapénèmes ont une place de choix pour le traitement curatif des pancréatites infectées en cas d'infection documentée, de choc septique, d'angicolite ou d'infection nosocomiale [123-132].

**Tableau III** Activité in vitro des carabapénèmes sur les bactéries à Gram négative, les CMI50 et CMI90 en mg/L [117,118,119].

Bactéries	Imipénème	Méropénème	Doripénème	Ertapénème
<i>E. coli</i>	0,12/0,25	0,016/0,03	0,03/0,06	≤ 0,015/≤ 0,015
<i>E. coli</i> BLSE	0,25/0,5	0,03/0,06	0,03/0,06	0,03/0,25
<i>K. pneumonia</i>	≤ 0,06/1	0,03/0,12	0,06/0,12	≤ 0,015/0,12
<i>K. pneumoniae</i> BLSE	0,25/1	0,03/0,12	0,06/0,12	0,06/0,25
<i>Proteus mirabilis</i>	0,5/2	0,06/0,06	0,12/0,25	≤ 0,06/≤ 0,06
<i>Morganella morganii</i>	2/8	0,12/0,25	0,25/0,5	≤ 0,015/0,03
<i>E. cloacae</i>	0,5/2	0,03/0,06	0,03/0,06	≤ 0,015/0,06
<i>Citrobacter freundii</i>	1/1	0,03/0,06	0,03/0,03	≤ 0,015/0,06
<i>Serratia marcescens</i>	½	0,06/0,12	0,12/0,25	0,03/0,12
<i>H. influenzae</i>	0,5/1	0,12/1	0,12/1	0,06/0,25
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0,06/0,12	≤ 0,015/≤ 0,015	0,12/0,25	0,06/0,25
<i>Salmonella sp</i>	≤ 0,5/≤ 0,5	0,03/0,03	0,06/0,06	≤ 0,06/≤ 0,06
<i>P. aeruginosa</i>	1/32	0,5/32	0,5/8	>8/>8
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,25/0,25	0,25/1	0,25/1	4/> 8
<i>Stenotrophomonas</i>	> 8/> 8	> 16/> 16	> 16/> 16	> 8/> 8

**Tableau IV** Activité in vitro des carabapénèmes sur les bactéries à Gram positif. Les CMI50 et CMI90 en mg/L [117,118,119].

Bactéries	Imipénème	Méropénème	Doripénème	Ertapénème
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,06/0,06	0,12/0,12	0,06/0,06	0,12/0,25
<i>S. aureus</i> (MR)	R	R	R	R
<i>Streptococcus pyogenes</i>	≤ 0,008/≤ 0,008	≤ 0,008/≤ 0,008	≤ 0,008/≤ 0,008	≤ 0,008/≤ 0,008
<i>S. saprophyticus</i>	0,016/0,016	0,03/0,06	0,016/0,016	0,03/0,06
<i>S. pneumoniae</i> (PéniS)	≤ 0,06/≤ 0,06	≤ 0,015/≤ 0,015	≤ 0,015/≤ 0,015	≤ 0,015/≤ 0,015
<i>S. pneumoniae</i> (PéniR)	0,5/1	0,5/1	0,5/1	½
<i>Enterococcus faecalis</i>	¼	4/8	4/8	8/32
<i>E. faecium</i>	> 8/> 8	> 16/> 16	> 16/> 16	> 16/> 16
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,03/0,12	0,12/0,12	Pas de données	0,25/0,5
<i>Pentostreptococcus spp</i>	0,03/0,06	0,12/0,25	0,12/0,25	0,25/4

## V.4.2 Approche thérapeutique : entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC)

### V.4.2.1 Mécanismes d'action

Contrairement aux céphalosporines et aux aminopénicillines qui se lient principalement à la PLP3, les carbapénèmes ont pour cibles privilégiées les PLP1a, 1b et 2, avec pour conséquence une lyse sans filamentation préalable et une moindre libération d'endotoxine par les bacilles à Gram négatif.

### V.4.2.2 Les mécanismes de résistance aux carbapénèmes

- La faible affinité pour la PLP5 d'*Enterococcus faecium* et pour la PLP2a des *staphylocoques résistants à la méticilline* rend compte de la résistance naturelle de ces bactéries.
- Chez *P. aeruginosa*, plusieurs mécanismes contribuent à la résistance. La perte de la porine OprD est responsable d'une augmentation de la CMI, mais doit s'accompagner d'une production de céphalosporinase pour produire une véritable résistance
- Chez les bacilles à Gram négatif, la résistance enzymatique est liée à la production de carbapénémases regroupées en trois classes A, B et D [133]. Les carbapénémases A sont des béta-lactamases identifiées sur des souches d'*Enterobacter cloacae* et *Serratia spp.* mais aussi chez les *Enterobacter spp* et *Salmonella spp*, *Klebsiella pneumoniae* [134,135]. Les carbapénémases de classe B sont des métallo-lactamases dont les gènes sont situés sur des plasmides et des intégrons et qui ont été identifiées chez *P. aeruginosa* et plus récemment chez *E. cloacae* et *K. pneumoniae*.. Les carbapénémases de classe D ont surtout été décrites chez *A. baumannii*.

### V.4.2.3 Les molécules utilisables :

#### ➤ Carbapénèmes

Parce que la nature et le taux d'expression de la carbapénémase ainsi que de la coexistence d'autres mécanismes de résistance (ex. hyperproduction de céphalosporinase et/ou de BLSE, imperméabilité membranaire) sont très variables d'une souche à l'autre, les CMI des carbapénèmes vis-à-vis des EPC sont très variables allant de 0,12 à >256 mg/L [136]. Ainsi seule la CMI semble conditionner l'utilisation de ces molécules [137].

Une autre possibilité de l'utilisation des carbapénèmes est l'association entre doripénème/méropénème et ertapénème, ce dernier jouant le rôle de « substrat suicide ». En effet, l'ertapénème ayant une affinité plus importante pour les carbapénémases bloque l'enzyme, laissant ainsi l'autre carbapénème agir. L'efficacité de cette association a été démontrée in vitro en modèle chémostat (annexe 4) et in vivo en modèle murin d'infection de cuisse [138].

#### ➤ Aztréonam et ceftazidime

Une des particularités de l'aztréonam est qu'il n'est pas hydrolysé par les métallo-béta-lactamases, ni par l'enzyme OXA-48. Ainsi, son efficacité a été démontrée dans un modèle d'abcès intra-abdominal à *E. coli* NDM-1 (New Delhi Métallo-béta-lactamase) chez le lapin avec 100 % de survie [139]. Cependant il n'a pas montré d'utilité pour les souches MBL(+) qui co-produisent une BLSE et/ ou une céphalosporinase (elles dégradent toutes les deux cet antibiotique).

Les entérobactéries qui produisent uniquement OXA-48 restent sensibles in vitro aux céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération (C3G). Ainsi, un traitement par C<sub>3</sub>G pourrait être envisageable en l'absence de co-production de BLSE/céphalosporinase (environ 10 à 20 % des souches OXA-48).

➤ **Nouvelles cyclines :**

LA minocycline, eravacycline, omadacycline (nouvelle tétracycline) et la tigécycline ont un large spectre, elles sont actives sur les *BLSE*, *le pneumocoque*, *le SARM* et *le C.difficile* mais inactives sur *P. aeruginosa*.

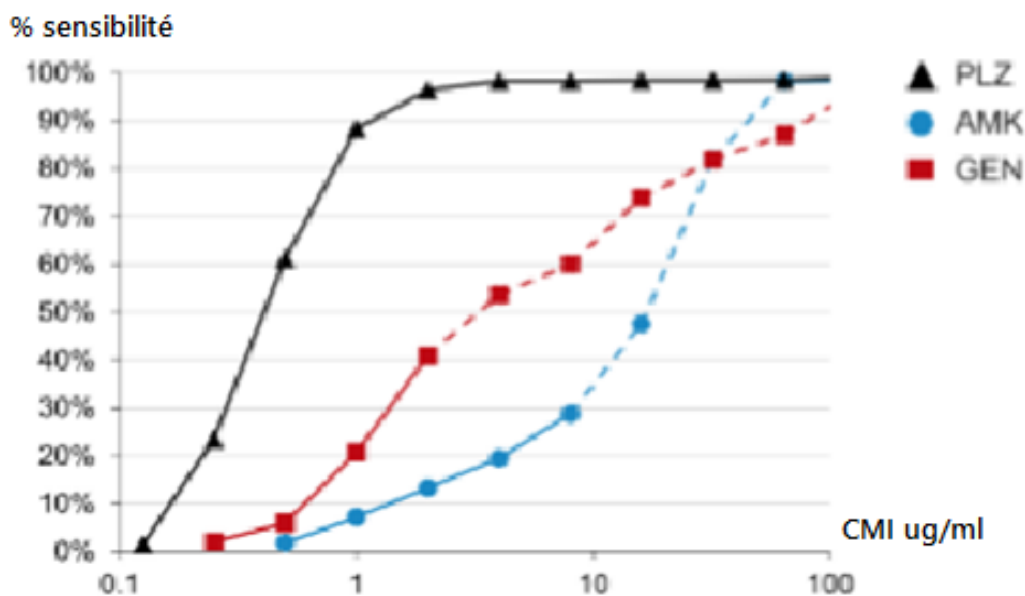
La tigécycline conserve une activité in vitro sur un grand nombre de bacilles à Gram négatif multi-résistants. Par exemple, 98 % des 51 souches de *K. pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes testées dans une étude récente restaient sensibles à cet antibiotique, avec des CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub> toutes deux égales à 1 mg/L (concentration critique EUCAST 1 mg/L) [140]. Malgré cette bonne activité in vitro, la tigécycline a été associée à un sur-risque de mortalité et d'échecs cliniques [141] et n'est pas recommandée en monothérapie dans les infections sévères. Ceci est en partie dû aux faibles concentrations plasmatiques (entre 0,6 et 0,9 mg/L). Un essai randomisé contrôlé [142] a récemment montré que des posologies plus importantes de tigécycline semblent être indispensables pour une efficacité optimale, mais ceci reste à confirmer par des études supplémentaires.

L'association tigécycline-méropénème est indifférente in vitro, Tandis que celle avec la colistine a été retrouvée synergique in vitro (à 4 fois la CMI) et in vivo dans un modèle invertébré chez *Galleria mellonella* [143,144]. La tigécycline doit être utilisée en association dans le traitement des infections à EPC.

### ➤ Aminosides

Dans une étude récente sur 174 entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC), 85 % des souches étaient sensibles in vitro à la gentamicine alors que seulement 15 % l'étaient à l'amikacine [145]. Plusieurs études cliniques ont également montré l'intérêt des aminosides en monothérapie dans le traitement des IU à EPC [146,147]. Dans une étude rétrospective américaine sur les bactériuries à *K. pneumoniae productrice de carbapénémase* traitées (n = 87) ou non (n = 69) par antibiotiques, il a été montré que l'éradication microbiologique dans les urines était atteinte dans 88 % des cas avec un aminoside, 64 % des cas avec la polymyxine B, 43 % des cas avec la tigécycline et 36 % des cas sans traitement [146].

Le plazomycine est un nouveau aminoglycoside actif contre les souches résistantes aux gentamicine et amikacine (fig 24), les céphalosporinases, les BLSE, les carbapénémases(sauf *proteus*) et *A.baumannii* [148].



**Figure 24:** l'activité du plazomycine(PLZ) comparée gentamicine(GEN) et amikacine(AMK)[148]

### ➤ Fosfomycine

Alors que 100 % des souches *d'E. coli* productrices de carbapénémases sont sensibles à la fosfomycine, les CMI sont plus élevées chez les souches EPC de *Klebsiella spp.* et *Enterobacter spp.* (48 % et 80 % de souches catégorisées sensibles, respectivement) [149]. Cette molécule devant toujours être associée du fait du risque important de sélection de mutants résistants.

Dans une étude rétrospective américaine chez 13 patients infectés par des souches de *K. pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes, il y avait une divergence notable entre sensibilité in vitro (92 %) et succès clinique (46 %) avec émergence de résistance chez 3 patients [150].

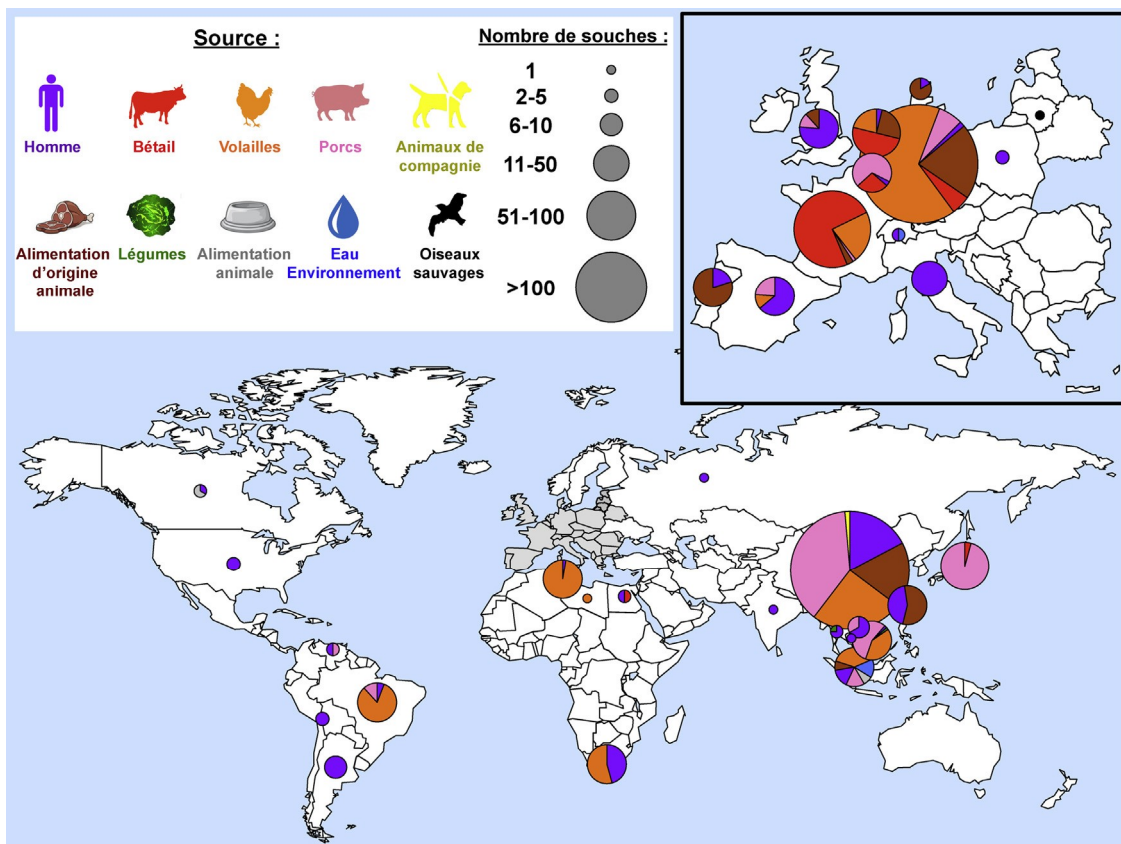
## ➤ Polymyxines

L'utilisation d'une dose de charge est fortement recommandée pour l'administration des polymyxines, notamment pour la colistine. Cette dernière, qui est administrée sous forme d'une pro-drogue inactive (colistiméthate), est lentement convertie en forme active. Ainsi, les concentrations thérapeutiques sont généralement atteintes après 48 heures sans dose de charge alors que seulement 12 à 24 heures sont nécessaires avec une dose de charge [151,152].

Les polymyxines sont généralement utilisées en association. Dans une revue de 15 études totalisant 55 infections à *K. pneumoniae* KPC, il a été montré que l'utilisation des polymyxines en association était associée à 73 % de succès cliniques alors qu'il n'y en avait que 14 % en cas de monothérapie [153]. En effet, une méta-analyse récente rapporte qu'une association colistine-carbapénème est synergique dans 44 % des cas sur *K. pneumoniae* [154].

L'augmentation de l'utilisation de ces molécules s'est accompagnée d'une augmentation des infections causées par des germes naturellement résistants à cette famille d'antibiotiques, tels que *Serratia*, *Morganella*, *Proteus* et *Providencia* [155-157]. De plus, un nombre croissant d'études a montré l'émergence de la résistance acquise aux polymyxines chez les bacilles à Gram négatifs naturellement sensibles (notamment *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*), notamment dans les pays tels que la Grèce [158,159] ou l'Italie [160] où l'utilisation de cette classe d'antibiotique est devenue routinière du fait de l'endémicité des entérobactéries productrices de carbapénémase (Fig 25).

Jusqu'à récemment, les mécanismes de résistance connus à la colistine résultaient essentiellement de modification de gènes chromosomiques impliqués dans les voies de synthèse et de modifications du lipopolysaccharide (LPS), cible des polymyxines. En novembre 2015, Liu et al. ont identifié pour la première fois un gène plasmidique, nommé *mcr-1* (*mobilized colistin resistance*), responsable de la résistance acquise à la colistine chez plusieurs souches de *E. coli* et une souche de *K. pneumoniae* d'origine animale et humaine [161].



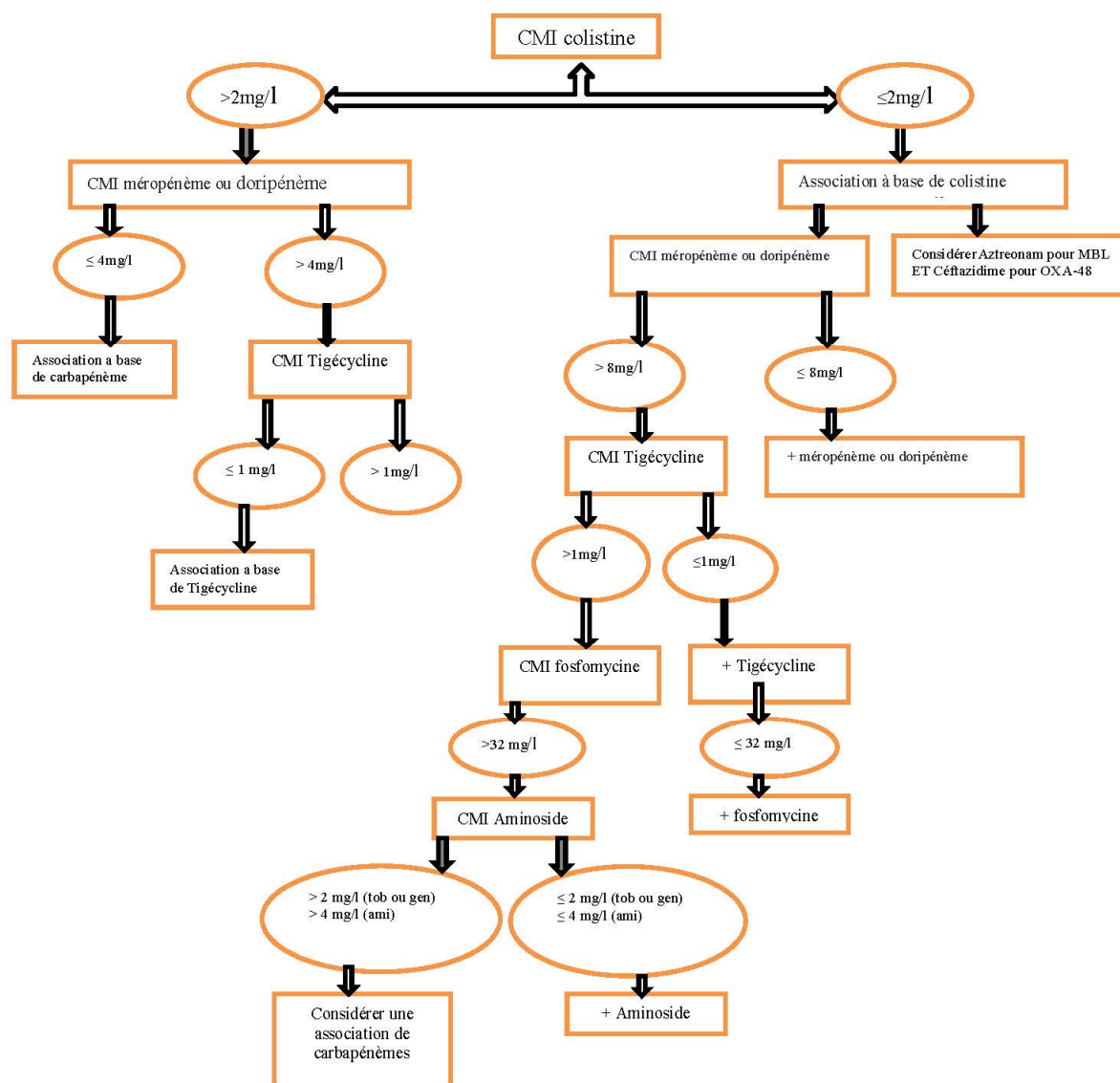
**Figure 25 :** Distribution géographique des souches d'entérobactéries productrices d'une résistance plasmidique à la colistine de type MCR (mobilized colistin resistance) au 1er août 2016 [162].

### ➤ Associations

Dans une étude rétrospective italienne portant sur une cohorte de 125 patients souffrant de bactériémies à *K. pneumoniae KPC*, la mortalité à 30 jours était significativement différente entre les patients traités par monothérapie et ceux traités par association (54,3 % vs. 34,1 %,  $p = 0,02$ ) [163]. Dans une seconde étude rétrospective américaine de 41 patients avec bactériémies à *K. pneumoniae KPC*, le traitement par association d'antibiotiques était associée de façon indépendante à une moindre mortalité [164].

Une autre question importante porte sur la nature des antibiotiques à associer. Les associations qui sont le plus souvent utilisées et qui ont montré un avantage significatif sur la monothérapie sont les suivantes : polymyxines-carbapénèmes, tigécycline-carbapénèmes et polymyxines-tigécycline [164,165].

Si la souche est sensible in vitro, le traitement des IU à EPC semble pouvoir être réalisé avec une monothérapie par aminoside [166]. Pour le traitement des autres infections (notamment bactériémies et pneumonies), il doit préférentiellement reposer sur une association d'antibiotiques, dans la mesure du possible contenant un carbapénème, en s'aidant d'un algorithme (Fig 26) [167, 168].



**Figure 26 Algorithme de traitement des infections à EPC [167,168].** Posologies recommandées : colistine : la colistine est administrée sous forme de colistiméthate avec une dose de charge de 150 000 UI/kg et dose d'entretien 12–24 h plus tard à 9–12 millions UI/j en 2–3 fois (si CI créatinine 60 mL/min). Aztréonam/ceftazidime : en présence d'une souche productrice de MBL (Métallo-β-lactamase), l'aztréonam peut être considéré en association à la dose de 6–8 g/j en 3–4 fois (perfusion de 3–4 h). En présence d'une souche productrice d'OXA-48, la ceftazidime peut être considérée en association à la dose de 6 g/j en 3 fois (perfusion de 3–4 h). Carbapénèmes : en cas de CMI 4 mg/L, le traitement doit reposer sur une association avec un carbapénème (méropénème ou doripénème) à la dose de 2 g toutes les 8 h (perfusion de 3–4 h). Si nécessaire, une association de carbapénèmes peut être envisagée entre méropénème/doripénème (aux mêmes posologies) et ertapénème (1 g/j en 1 fois). Tigécycline : en cas de CMI 0,25 mg/L, la tigécycline doit être administrée avec une dose de charge de 100 mg et une dose d'entretien de 50 mg toutes les 12 h tandis que si la CMI = 0,5–1 mg/L, ces doses doivent être de 200 mg et 100 mg toutes les 12 h. Fosfomycine : si CMI < 16 mg/L, posologie de 12–16 g/j en 3–4 fois ; si CMI = 16–32 mg/L, posologie de 20–24 g/j en 3–4 fois. Aminosides : gentamicine, tobramycine : si CMI 0,5 mg/L, 5 mg/kg/j en 1 fois ; si CMI = 1–2 mg/L, 7 mg/kg/j en 1 fois. Amikacine : si CMI 4 mg/L, 15 mg/kg/j en 1 fois.

### ➤ Association Béta-lactamines et Inhibiteurs des Béta-lactamases.

L'utilisation des inhibiteurs des Béta-lactamines associés aux Béta-lactamines a permis restaurer la sensibilité des entérobactéries BLSE à cette dernière. à côté des anciens inhibiteurs aux B-lactamines, dérivés des Béta-lactamines : Acide Clavulanique, Tazobactam (piperacilline,tazocilline), Sulbactam .Une nouvelle génération plus efficace des inhibiteurs des B-lacmines, non B-lactamines envers ces bactéries multi résistantes : Avibactam , Relebactam, Carbavance (RPX7009) a été découverte (Tableau V)[169] .

L'association des C3G ou carbapénèmes –inhibiteurs B-lactamases a pu restaurer un spectre large surtout contre les carbapénémases (Tableau VI), mais elle reste inactive sur la classe B des entérobactéries (NMD-, VIM et autres métallo-protéases), OXA 23 et OXA 24/40 [170].

une étude menée en sptembre 2016 sur 37 patient avec des infections graves sur des carbapénémases a montré que l'association cétazidime-avibactam a permis un taux de réussite clinique à 59% et une survie globale à 76% [171].

**Tableau V** Le spectre d'action de l'avibactam en comparaison avec les anciens inhibiteurs des bêta-lactamases

$\beta$ -Lactamase	Avibactam	Clavulanic Acid	Tazobactam
<b>Class A (Serine)</b> TEM, SHV and ESBLs CTX-M and ESBLs PER, VEB, GES KPC	<b>Yes</b>	Yes	Yes
	<b>Yes</b>	Yes	Yes
	<b>Yes</b>	Yes	Yes
	<b>Yes</b>	No	No
<b>Class B (Metallo)</b> IMP, VIM, NDM	<b>No</b>	No	No
<b>Class C (Serine)</b> Chromosomal <i>Enterobacteriaceae</i> AmpC Chromosomal <i>Pseudomonas</i> AmpC Plasmidic ACC, DHA, FOX, LAT, MIX, MIR, ACT	<b>Yes</b>	No	No
	<b>Yes</b>	No	No
	<b>Yes</b>	No	No
<b>Class D (Serine)</b> Penicillinase-type OXA-1, -31, -10, -13 Carbapenemase-type OXA-23, -40, -48, -58	<b>Variable</b>	Variable	Variable
	<b>Variable</b>	Variable	Variable

**Tableau VI** Associations des inhibiteurs des bêta-lactamases [170].

Inhibitor	Spectrum	Combination Antibiotics
Clavulanic acid <sup>28-30</sup>	Class A narrow spectrum Class A ESBLs	Amoxicillin Ticarcillin
Tazobactam <sup>6,39</sup>	Class A narrow spectrum Class A ESBLs Some class C enzymes	Piperacillin Ceftolozane
Sulbactam <sup>19,35,37</sup>	Class A narrow spectrum Class A ESBLs	Ampicillin Piperacillin Cefoperazone
Avibactam <sup>46-48</sup>	Class A narrow spectrum Class A ESBLs Class A carbapenemases Some class C and class D enzymes	Ceftaroline Ceftazidime Aztreonam
MK-7655 <sup>75,76</sup>	Class A narrow spectrum Class A ESBLs Class A carbapenemases	Imipenem
RPX7009 <sup>83,84,85</sup>	Some class C enzymes Class A narrow spectrum Class A ESBLs Class A carbapenemases Some class C enzymes	Biapenem



*Definition des BMR*

## VI. PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRESISTANT (PAR)

### VI.1 Taxonomie

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des Pseudomonadaceae qui inclut dix genres : *Azomonas*, *Azomonotrichon*, *Azorhizophilus*, *Azotobacter*, *Cellvibrio*, *Mesophilobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobacter*, *Rugamonas*, et *Serpens*. Le genre *Pseudomonas* regroupe plus de 140 espèces dont les principales sont: *Pseudomonas aeruginosa* (espèce type), *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Pseudomonas mallei*, *Pseudomonas pickettii*, *Pseudomonas solanacearum*, *Pseudomonas diminuta*, *Pseudomonas vesicularis*, *Pseudomonas paucimobilis*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas mesophilica* et *Pseudomonas nautica* [172] .

*Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce type du genre *Pseudomonas*. Sa taxonomie est présentée dans le tableau VII

**Tableau VII** : Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* [172]

<b>Règne</b>	<b><i>Bacteria</i></b>
Embranchement	<i>Prokaryota</i>
Division	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Aeruginosa</i>

## VI.2 Caractéristiques

*Pseudomonas aeruginosa* est connue depuis longtemps sous le nom de Bacillus pyocyaneus (bacille pyocyanique) ou agent du pus bleu des plaies surinfectées. Il s'agit d'un bacille à Gram négatif non sporulant. Il mesure 1 à 5 µm de long et 0,5 à 1 µm de large. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire. Cette bactérie est mésophile. Elle est capable de se développer dans des températures allant de +4°C à +45°C. La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie aérobie et possède un métabolisme oxydatif. Elle utilise l'oxygène comme accepteur d'électrons mais en absence de ce dernier, elle peut utiliser les nitrates comme accepteur d'électrons.

## VI.3 Identification des souches

### VI.3.1 Galerie API 20NE

La galerie API 20 NE (Fig 27) est constituée de 20 microtubes contenant des milieux et substrats sous forme déshydratée. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux.

Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant (Annexe 2) [173].



Figure 27: Galerie API 20NE

## **VI.4. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques**

### **VI.4.1 Diffusion des disques en milieu gélosé de Mueller-Hinton (MH)**

Les critères de lecture et d'interprétation ont été ceux du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM).

Douze antibiotiques ont été testés : la Ticarcilline (75 µg), la Pipéracilline (75 µg), la Ticarcilline+l'acide clavulanique (75/10 µg), la Pipéracilline + tazobactam (75/10 µg), la Ceftazidime (30 µg), l'Imipénème (10 µg), l'Aztréonam (30 µg), l'Amikacine (30 µg), la Tobramycine (10 µg), la Gentamicine (15 µg), la Ciprofloxacine (5 µg) et la Colistine (50µg) [174].

La recherche de  $\beta$ -lactamase à spectre étendu se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme, en disposant des disques d'antibiotiques ceftazidime et aztréonam à une distance de 20 à 30 mm du disque contenant de l'acide clavulanique. Pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à la ceftazidime, l'inhibition de l'hyperproduction de céphalosporinases a été réalisée sur gélose MH additionnée de cloxacilline avec une concentration finale de 500 mg/l [174, 175] . Ce test est significatif lorsque le diamètre de la zone d'inhibition au tour des disques d'antibiotiques céphalosporines de troisième génération augmente d'au moins 8 mm avec un rétablissement de la sensibilité.

#### **➤ Technique**

- A partir d'une culture pure de 18-24 heures sur milieu gélosé non sélectif, réaliser une suspension de 0.5 McFarland ( $\sim 10^8$  UFC/mL) dans 5 ml d'eau physiologique (0,9% NaCl).

- Réaliser une dilution de 1/10e ( $\sim 10^7$  UFC/mL) dans 10 ml d'eau physiologique à 0.9%, puis homogénéiser la suspension bactérienne au vortex [174].
- Ensemencer cette dilution par écouvillonnage sur des boites de pétri contenant 20 ml de gélose Mueller-Hinton.
- Appliquer les disques d'antibiotique à l'aide d'une pince stérile en disposant les disques d'antibiotiques C3G et aztréonam à une distance de 20 à 30 mm du disque contenant l'acide clavulanique.
- Laisser les boites 20 mn à température ambiante pour permettre une pré-diffusion de l'antibiotique, puis les incuber pendant 18-24h à 37°C [174].

➤ **Lecture**

- La lecture se fait en mesurant avec précision les différents diamètres des zones d'inhibition. Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans le CASFM et classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.
- Interpréter les phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines [174].

#### **VI.4.2 Test à l'EDTA**

La recherche des métallo- $\beta$ -lactamases (MBLs) a été effectuée sur les souches résistantes à l'IPM en mettant à profit la faculté de l'ethylene-diamin-tetra-acetic-acid (EDTA), chélateur bivalent à restaurer l'activité de l'IPM en chélatant les ions  $Zn^{2+}$  indispensables à l'activité de la métallo- $\beta$ -lactamases et la rendant ainsi inactive [174].

### ➤ **Technique**

- Ensemencer la suspension bactérienne d'opacité 0,5 Mc Farland sur gélose Mueller-Hinton par inondation puis laisser sécher.
- Déposer deux disques d'imipénème (10 µg) à 20mm centre à centre l'un comme témoin, et sur l'autre, un volume contenant 4 µl d'EDTA (0.5 M, pH 8).
- Déposer un autre disque d'IPM (10µg) à 20mm centre à centre d'un disque non imprégné stérile sur lequel a été déposée 10 µl d'EDTA (0.5 M, pH 8).
- Incuber 18 à 24 heures à 37°C [174].
- Un témoin positif correspondant à une souche de *Pseudomonas aeruginosa* productrice de la métallo-β-lactamase VIM a été utilisé [174].

### ➤ **Lecture**

Les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque IPM–EDTA était supérieur d'au moins 8mm à celui obtenu avec le disque d'IPM seul pour la première technique, et dont on observe une synergie entre les deux disques pour la deuxième technique, ont été considérées comme souches productrices de métallo-β-lactamases [174].

### **VI.4.3 Détection de métallo-β-lactamases par bandelette E-test**

Les bandelettes E-test® MBL (AB BioMerieux, France) se composent de gradients IMP (4-256 g/ml) et IMP (1-64 g/ml) plus un niveau constant d'EDTA (IMP-EDTA). Le test est effectué en utilisant une procédure E-test standard, en déposant la bandelette sur une gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée par la souche à tester. Après incubation 18 à 24 heures à 37°C, la production de métallo-β-lactamases est indiquée par une réduction de la CMI de l'imipénème en présence d'EDTA (rapport CMI de IMP / IMP+EDTA  $\geq$  8) ou l'apparition d'une zone de synergie entre les sections IMP / IMP+EDTA [174].

### **VI.5 Identification des gènes de résistance par PCR simple**

La PCR (Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérase en chaîne) est une technique d'amplification d'ADN *in vitro* qui permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN cible.

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes : une dénaturation de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent, une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, puis une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase. Ce cycle est répété un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible. Les réactions d'amplification des gènes de résistance aux antibiotiques sont réalisées avec des couples d'amorces spécifiques (Eurogentec) dans un thermocycler de type Labnet MultiGene OptiMax 230V TC9610-230 (Fisher) en présence de *Taq* DNA Polymerase (Qiagen®) en respectant les conditions d'utilisation spécifiées par le fournisseur. Les amplicons sont ensuite purifiés et séquencés. Les séquences sont comparées à celles déposées dans une banque de données (Annexe 3) [174].

## VI.6 Résistance aux $\beta$ -lactamines

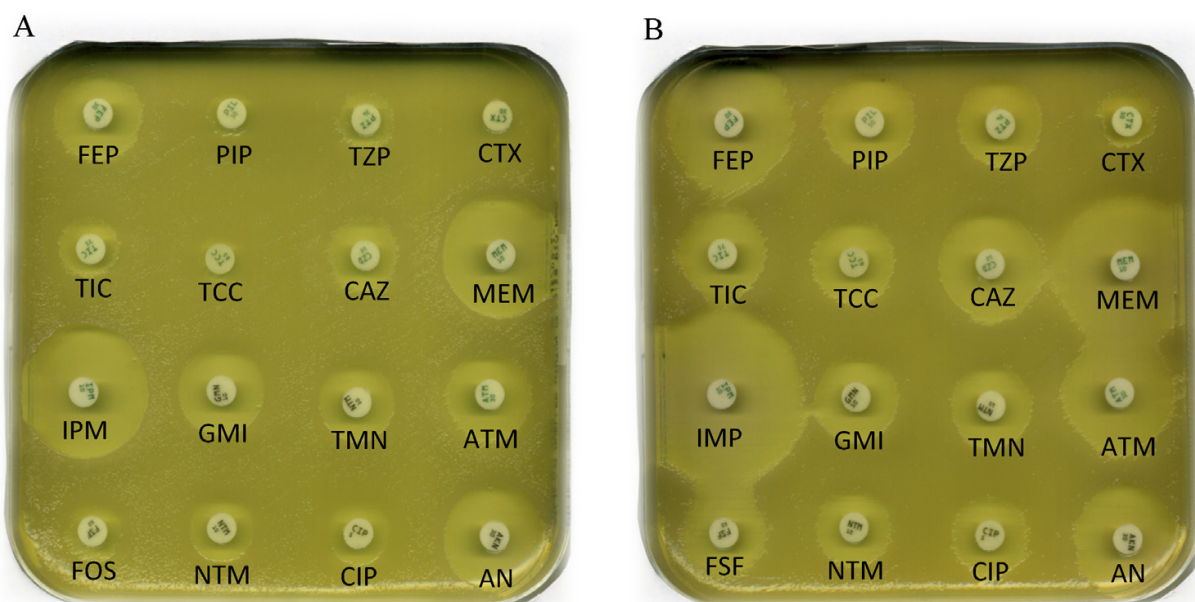
### VI.6.1 Modification de mécanismes intrinsèques

*Pseudomonas aeruginosa* a une remarquable capacité de développer une résistance à la plupart des agents antimicrobiens par de multiples mécanismes. Un de ses mécanismes de résistance est lié à sa capacité de changer de phénotype en mutant d'une souche invasive non mucoïde à une souche mucoïde surexprimant l'alginate, une matrice d'exopolysaccharide favorisant une colonisation pulmonaire chronique. La mutation responsable de la forme mucoïde (*muc*) est associée à l'activation de la transcription du gène de l'alginate *algD* [176]. La région responsable des formes mucoïdes et non mucoïdes contient trois gènes étroitement liés *algU*, *mucA*, et *mucB*. *AlgU* est un régulateur positif, *mucA* et *mucB* constituent le cluster de gènes contrôlant la conversion à la forme mucoïde. Une importante activation de la transcription d'*algD* et la conversion à la souche mucoïde sont observées quand *mucA* ou *mucB* sont inactivés au niveau du chromosome des souches initialement non mucoïdes. La production locale, par *P. aeruginosa*, d'exopolysaccharides (alginate) provoque la formation d'un biofilm enrobé d'une matrice d'exopolysaccharides.

Des mécanismes de résistance intrinsèque sont également à l'origine d'une résistance aux antibiotiques [176].

## VI.6.2 Surproduction de la céphalosporinase naturelle, AmpC

Presque toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* produisent une  $\beta$ -lactamase à large spectre, dénommée AmpC (classe C de Ambler), dont l'expression peut être induite par certaines  $\beta$ -lactamines comme les carbapénèmes et la céfoxitine, ou encore l'acide clavulanique [176]. L'enzyme est faiblement produite chez les bactéries sauvages et hydrolyse, principalement les aminopénicillines (amoxicilline et ampicilline), les céphalosporines de 1<sup>ère</sup> (C1G) et de 2<sup>ème</sup> (C2G) génération ainsi que le céfotaxime. Cependant, la survenue de mutations dans des gènes impliqués dans le recyclage du peptidoglycane tels que *dacB* (W92Stop, T428P), *ampD* (délétion, codon stop prématuré, M200I, IS1669) et *ampDH3*, ou dans le gène *ampR* (D135N, G154R), qui code pour un régulateur transcriptionnel de la famille LysR, peut entraîner la dérégulation partielle ou totale du gène *ampC*. Il en résulte une hydrolyse plus ou moins importante, selon le niveau de production de l'enzyme, de la plupart des  $\beta$ -lactamines à l'exception des carbapénèmes (Fig 28) [176].



**Figure 28** : Antibiogrammes d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* surproduisant la céphalosporinase naturelle, AmpC. Antibiogrammes réalisés selon les recommandations du CA-SFM 2015, sur un (A) milieu de Mueller Hinton (B) et un milieu de Mueller Hinton additionné de 2000 mg/mL de cloxacilline. FEP : céfépime ; PIP : pipéracilline ; TZP : tazobactam/pipéracilline ; CTX : céfotaxime ; TIC : ticarcilline ; TCC : ticarcilline/ac. clavulanique ; CAZ : ceftazidime ; MEM : méropénème ; IMP : imipénème ; GMI : gentamicine ; TMN : tobramycine ; ATM : aztréonam ; FOS : fosfomycine ; NTM : nétilmicine ; CIP : ciprofloxacine ; AN : amikacine. [176]

Par ailleurs, certains variants de séquence de l'enzyme AmpC, dénommés ESAC pour Extended Spectrum AmpC, ont été décrits récemment confèrent une résistance de très haut niveau à la ceftazidime et au ceftolozane, pouvant s'étendre au céfépime et à la ticarcilline, mais ne touchant pas ou peu la pipéracilline [176].

L'impact sur la résistance aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G) diffère selon la localisation des mutations dans la structure de la  $\beta$ -lactamase (boucle oméga, domaine R2, partie C-terminale). Certaines de ces mutations (E221K, E221G, N347I, P154L, F121L, G216R) augmentent l'activité hydrolytique de l'enzyme vis-à-vis du ceftolozane, même en présence du tazobactam, ou encore diminuent le pouvoir inhibiteur de l'avibactam [176].

Certaines ESAC (portant les mutations G216R ou E221K) et la production concomitante de  $\beta$ -lactamases extrinsèques peuvent conduire à des résultats faussement négatifs. Le gène chromosomique codant l'enzyme AmpC n'a, pour l'instant, pas été identifié sur des plasmides. Il n'est donc pas, a priori, transmis à d'autres espèces comme c'est le cas des AmpC plasmidiques d'entérobactéries [176].

### **VI.6.3 Surproduction des systèmes d'efflux actif**

La résistance acquise aux  $\beta$ -lactamines peut résulter de la surproduction de systèmes d'efflux actif. Pas moins de 12 systèmes de type RND (Resistance Nodulation cell Division family) sont codés par le chromosome de *P. aeruginosa*. Ces transporteurs membranaires ou « pompes » s'opposent à l'accumulation intracellulaire de tout un ensemble de molécules inhibitrices en les refoulant activement vers le milieu extérieur. Formés de l'association de trois protéines, les systèmes d'efflux Mex (Multiple efflux) se distinguent des autres

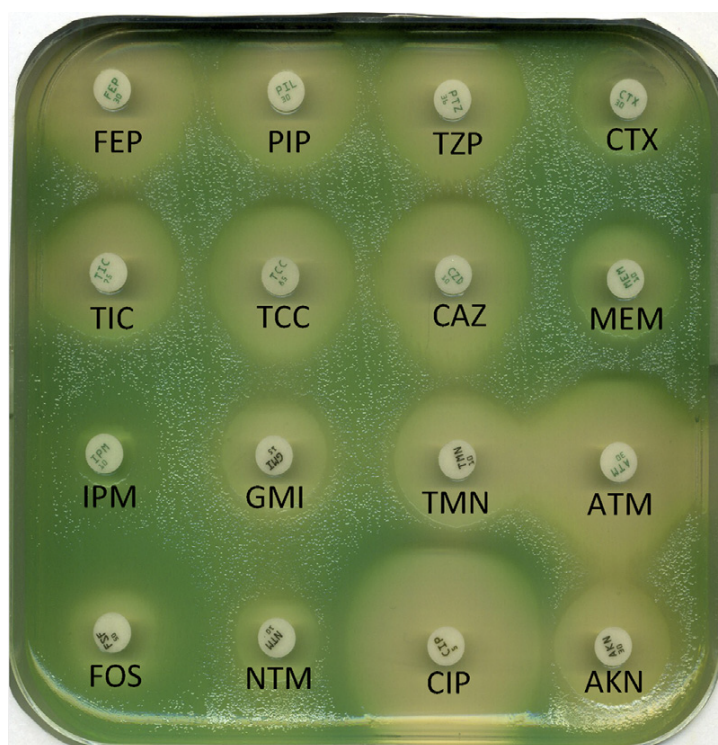
mécanismes de résistance par leur polyspécificité, c'est-à-dire leur capacité à transporter des molécules ayant des structures chimiques très différentes les unes des autres. Toutefois, seuls les deux systèmes majeurs, MexAB-OprM et MexXY(OprM), peuvent entraîner une résistance significative aux  $\beta$ -lactamine ainsi qu'aux aminosides, aux (fluoro) quinolones, aux tétracyclines, aux sulfamides, au triméthoprim et/ou au chloramphénicol. Ces pompes sont activées par des mutations spontanées survenant dans des gènes régulateurs. Les mutants surexprimant l'un ou l'autre de ces systèmes, voire les deux simultanément [176].

Le diamètre d'inhibition autour du disque d'aztréonam (30 mg) est inférieur d'au moins 4 mm à celui autour du disque de ceftazidime (30 mg), sur un antibiogramme réalisé selon les recommandations du CASFM 2013. À noter que la modification de la charge (de 30 à 10 mg) du disque de ceftazidime selon les critères de l'EUCAST 2014 rend désormais cette règle inapplicable. En routine, l'identification des mutants d'efflux n'est pas nécessaire car les résultats de l'antibiogramme ne sont pas interprétés. La surproduction de la pompe MexAB-OprM se traduit aussi par une réduction des zones d'inhibition autour des disques de fluoroquinolones (ofloxacin, ciprofloxacine, lévofloxacine) [176]. L'activation du système MexXY(OprM) s'accompagne, quant à elle, d'une augmentation de 2 à 8 fois des CMI des céphalosporines zwitterioniques (céfépime, cefpirome), des aminosides (gentamicine, amikacine, tobramycine) et des fluoroquinolones. Enfin, certains mutants (ParRS) surproduisant le système d'efflux MexXY(OprM) présentent des phénotypes plus complexes où s'ajoutent une résistance aux carbapénèmes par repression de la porine OprD et une baisse de sensibilité aux polymyxines telles que la colistine, par modification enzymatique des lipopolysaccharides [176].

#### VI.6.4 Altération de la porine OprD

Pour franchir la membrane externe et pénétrer dans la bactérie, les  $\beta$ -lactamines utilisent la porine majoritaire OprF, à l'exception des carbapénèmes qui empruntent la porine spécifique OprD . L'altération qualitative ou quantitative de cette porine par des mutations dans le gène *oprD* ou divers régulateurs constitue un mécanisme de résistance très fréquent aux carbapénèmes chez les souches cliniques[176].

La résistance touche l'ensemble des carbapénèmes (CMI 4 à 32 fois) sans affecter la sensibilité aux autres  $\beta$ -lactamines (Fig 29). L'impact de cette imperméabilité membranaire sur la catégorisation S/I/R des bactéries est moindre pour le doripénème et le méropénème dont l'activité intrinsèque est meilleure que celle de l'imipénème sur le bacille pyocyanique. Ainsi, des mutants d'imperméabilité apparaissant « I » ou « R » à l'imipénème peuvent parfois rester « S » aux deux autres carbapénèmes [176]. Par ailleurs, les CMI des carbapénèmes peuvent être augmentées de 2 à 4 fois chez une autre catégorie de mutants surexprimant le système d'efflux actif Mex- XY(OprM), MexEF-OprN ou CzcCBA, suite à une corégulation négative de l'expression du gène *oprD*. C'est le cas des mutants appelés agrW2 dont la sensibilité diminuée aux aminosides et aux fluoroquinolones est due à la surproduction de la pompe MexXY(OprM) et la résistance aux carbapénèmes à un défaut de perméabilité membranaire impliquant la porine OprD [176]. Les mutants MexEF-OprN et CzcCBA sont respectivement plus résistants aux fluoroquinolones et aux métaux lourds . Enfin, il n'existe pas actuellement d'éléments permettant de penser que des altérations de la porine majoritaire OprF sont à l'origine d'une augmentation de la résistance aux antibiotiques chez *P. aeruginosa* comme c'est le cas chez d'autres espèces à Gram négatif appartenant, notamment, à la famille des entérobactéries.



**Figure 29** : Antibiogramme d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* présentant une altération de la porine OprD [176].

### VI.6.5 Acquisition d'ADN étranger

L'apparition de nouvelles résistances chez *Pseudomonas aeruginosa* est fréquemment liée à l'acquisition de matériel génétique étranger porté par des plasmides, des transposons et/ou des intégrons. Ces divers supports génétiques véhiculent fréquemment des gènes codant pour des pénicillinases, des  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSEs) et/ou des carbapénèmases. Comme chez les entérobactéries, les isolats cliniques de *P. aeruginosa* peuvent héberger des  $\beta$ -lactamases appartenant aux classes A, B, et D de Ambler. Les BLSEs et les métallob $\beta$ -lactamases (MBLs) ont un impact thérapeutique majeur car elles confèrent des hauts niveaux de résistance vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines antipyocyaniques [176].



*Acinetobacter baumannii*  
*multi résistant (BAR)*

## VII. ACINETOBACTER BAUMANNII MULTI RESISTANT (BAR)

### VII.1 Taxonomie

Tableau VIII Classification d'*Acinetobacter baumannii* selon Bergey's manual [177]

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Prokaryota</i>
Division	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Moraxellaceae</i>
Genre	<i>Acinetobacter</i>
Espèces	<i>Baumannii</i>

## VII.2. Caractères morphologiques

Tableau IX: Caractères morphologiques d' *Acinetobacter baumannii* [178]

Caractère	Bacille ou coccobacille (Figure 30)
Gram	Négatif ou douteux du fait d'une résistance à la décoloration par alcool-acétone
Diamètre	Compris entre 0,9 et 1,6 $\mu\text{m}$
Longueur	Variable entre 1,5 $\mu\text{m}$ (forme coccoïde) et 5 $\mu\text{m}$ (forme filamenteuse)
Forme	Souvent associé par deux
Mobilité	Immobile, il peut se déplacer grâce à des structures polaires ressemblant à des fimbriae de 5 nm de diamètre et de 10 à 15 nm de longueur
Sporulation	Non sporulé
Encapsulation	Certaines souches peuvent être capsulées mais en général très polymorphes avec des formes filamenteuses dans les cultures âgées

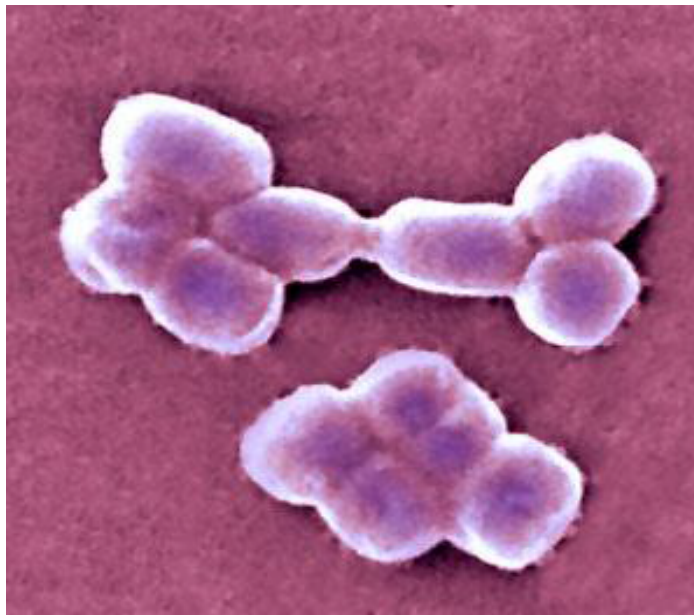


Figure 30 :Groupe d' *Acinetobacter baumannii* [179]

### VII.3 Identification d'*Acinetobacter baumannii* par détection du gène blaOXA-51-like

*Acinetobacter baumannii* possède une oxacillinase intrinsèque, chromosomique, et codée par le gène bla<sub>OXA-51-like</sub>. Ce dernier ne confère toutefois la résistance aux carbapénèmes que lorsqu'il est associé à la séquence d'insertion ISAbal en amont. Différentes études ont montré que le gène bla<sub>OXA-51-like</sub> était présent dans la totalité des souches d'*Acinetobacter baumannii* testées. Etant spécifique à cette espèce, ce gène est à ce jour utilisé dans de nombreuses études relatant la détection de la bactérie en pathologie humaine, et notamment lors d'épidémies. Ce gène peut être détecté aussi bien par PCR traditionnelle que par PCR en temps réel. Les avantages d'une telle technique d'identification résident notamment dans la simplicité et la fiabilité. Les séquences des amorces pouvant être utilisées sont présentées dans le Tableau X [180].

**Tableau X** Séquences des amorces utilisées pour la détection moléculaire du gène bla<sub>OXA51-like</sub> chez *Acinetobacter baumannii* [180].

Type de PCR	Nom des amorces	Séquence des amorces (5'→3')	Taille amplicon (pb)
Conventionnelle	OXA51 <sub>like</sub> -F	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	353
	OXA51 <sub>like</sub> -R	TGGATTGCACTTCATCCTTGG	
En temps réel	OXA51 <sub>like</sub> -F	AACATTAAAGCACTCTTACTTATAAC	171
	OXA51 <sub>like</sub> -R	TTGTTGGATAACTAAACACCCGT	
	OXA51 <sub>like</sub> -sonde	FAM-TGCTCACCTTATATAGTGTCTGCTAA-TAMRA	

### **VII.3.1 Identification des espèces appartenant au complexe «*Acinetobacter calcoaceticus/ Acinetobacter baumannii* » par PCR multiplexe ciblant le gène gyrB**

La variabilité du gène gyrB codant la sous-unité bêta de l'ADN gyrase a été mise à profit pour différencier les espèces appartenant au complexe «*Acinetobacter calcoaceticus/ Acinetobacter baumannii* ». Le principe est basé sur la technique de PCR multiplexe qui discrimine les espèces selon la longueur de l'amplicon obtenu. Higgins et al. ont mis au point cette technique à partir de quatre couples d'amorces qui sont utilisés dans une même réaction d'amplification. Suite à la PCR, les produits d'amplification sont différenciés par leur taille après électrophorèse sur gel d'agarose. Le détail des amorces utilisées est présenté dans le Tableau XI [180]. Dans son étude Higgins a inclus des souches cliniques n'appartenant pas au complexe «*Acinetobacter calcoaceticus/ Acinetobacter baumannii* ».

Les résultats ont montré une absence d'amplification pour toutes ces souches, montrant que cette PCR multiplexe est spécifique pour différencier les souches du complexe «*Acinetobacter calcoaceticus/ Acinetobacter baumannii* ». Cette méthode de PCR a montré sa robustesse et sa reproductibilité. De plus, un résultat peut être rendu en moins de 3 heures, et de par sa simplicité, cette méthode peut être utilisée dans la plupart des laboratoires de routine [180].

**Tableau XI** Séquences des amorces utilisées pour l'identification, par PCR multiplexe, des espèces appartenant au complexe << *Acinetobacter calcoaceticus* et *Acinetobacter baumannii* >> [180].

Espèce ciblée	Nom des amorces	Séquence des amorces (5'→3')	Taille amplicon (pb)
<i>A. calcoaceticus</i>	D14	GACAACAGTTATAAGGTTTCAGGTG	428
	D19	CCGCTATCTGTATCCGCAGTA	
<i>Acinetobacter</i> gen.sp.3	D16	GATAACAGCTATAAAGTTTCAGGTGGT	194
	D8	CAAAAACGTACAGTTGTACCACTGC	
<i>A. baumannii</i>	Sp2F	GTTCTGATCCGAAATTCTCG	490
	Sp4R	AACGGAGCTTGTGAGGGTTA	
<i>A. baumannii</i> et 13T&U	Sp4F	CAGCCGTAAGAGTGCATTA	294
	Sp4R	AACGGAGCTTGTGAGGGTTA	

### VII.3.2 Identification des espèces d'*Acinetobacter* par séquençage du gène *rpoB*

Le gène *rpoB* code la sous-unité bêta de l'ARN polymérase et est présent chez les bactéries. Ce gène possède des zones conservées et d'autres hypervariables. Des études réalisées par Gundi et al. ont permis d'identifier un fragment de 350 pb appelé « zone 1 » qui permet de discriminer aisément les différentes espèces d'*Acinetobacter* [180].

Ce fragment est obtenu par amplification à l'aide des amorces Ac696F et Ac1093R (séquences respectives 5'-TAYCGYAAAGAYTTGAAAGAAG-3' et 5'-CMACACCYTTGTTMCCRTGA-3'). Après séquençage, la séquence nucléotidique obtenue est analysée sur le serveur NCBI (National Center for Biotechnology Information, Los Alamos, US), à l'aide du logiciel BlastN (blast nucléaire : Pour comparer une séquence requête nucléaire à une banque de séquences nucléiques). Le séquençage de ce fragment de 350 pb du gène rpoB a l'avantage de pouvoir discriminer les différentes espèces appartenant au complexe «*Acinetobacter calcoaceticus/ Acinetobacter baumannii* » [180].

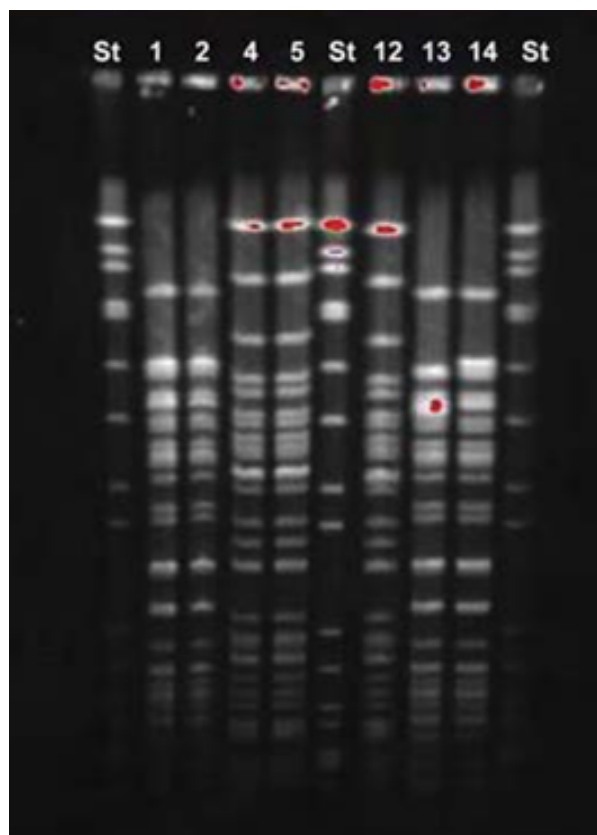
Par ailleurs, cette méthode moléculaire permet une identification rapide et exacte, à condition de disposer d'un séquenceur.

### **VII.3.3 Identification des espèces appartenant au complexe «*Acinetobacter calcoaceticus/ Acinetobacter baumannii* » par séquençage de l'espace intergénique 16S-23S de l'ARN ribosomique**

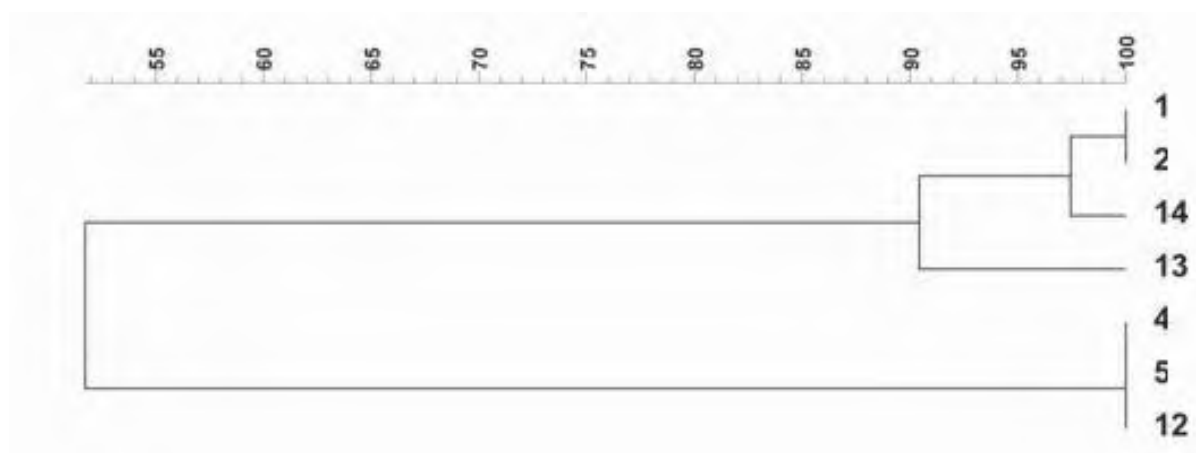
La région séparant le gène codant la sous-unité 16S de celui codant la sous-unité 23S de l'ARN ribosomique est appelée espace intergénique (internal transcribed spacer– ITS). C'est une région variable, sa taille dépend de l'espèce bactérienne considérée. La variabilité de la taille est très faible au sein d'une même espèce bactérienne, mais augmente lorsque l'on compare différentes espèces au sein d'un même genre [180]. L'analyse de ces séquences intergéniques permet de discriminer les différents membres appartenant au complexe «*Acinetobacter calcoaceticus/ Acinetobacter baumannii* », comme l'atteste notamment le travail de Chang et al. Le principe repose sur l'amplification par PCR de la région intergénique et de ses régions flanquantes à

l'aide des amorces universelles 1512F (5'- GTCGTAACAAGGTAGCCGTA-3') et 6R (5'- GGGTTYCCCCRTTCRGAAAT -3' où Y est C ou T, et R est A ou G) suivi d'un séquençage pour déterminer la séquence nucléotidique et sa longueur [180].

Cette méthode est simple et fiable pour discriminer les espèces du complexe «*Acinetobacter calcoaceticus/ Acinetobacter baumannii* », sous condition qu'un séquenceur soit disponible au sein du laboratoire (Figure 31-32) [180].



**Figure 31** : Profil d'électrophorèse en champ pulsé obtenu à partir de sept souches (1, 2, 4, 5, 12, 13, 14) d'*Acinetobacter baumannii* dont les génomes ont été préalablement digérés par l'enzyme *ApaI* [180].



**Figure 32** : Dendrogramme obtenu à partir du champ pulsé [180].

L'expérience a été réalisée sur l'appareil CHEF-DR-III (Biorad®) avec des pulses allant de 3 à 8 secondes pendant 10,5 heures, puis de 12 à 20 secondes pendant 10,5 heures. Voltage : 6 V/cm; angle de switch : 120°. St : standard.

Les profils ont été analysés à l'aide du logiciel Fingerprinting (Biorad®). Les résultats montrent un profil similaire pour les souches 1, 2, 13, 14 et un autre profil similaire pour les souches 4, 5 et 12 [180].

## VII.4 Résistance acquise aux $\beta$ -lactamines

### VII.4.1 $\beta$ -lactamase de classe A et BLSE

L'acquisition d'une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE) est rare chez *Acinetobacter baumannii*. Les plus classiques sont VEB-1 (Poirel et al., 2003) et PER-1 (Vahaboglu et al., 1997), mais d'autres  $\beta$ LSE plus rares ont été décrites comme SHV-12 (Huang et al., 2004), SHV-5 (Naas et al., 2007), TEM-92 (Endimiani et al., 2007) ou CTX-M-2 (Nagano et al., 2004) [181].

Les  $\beta$ LSE de type GES ont aussi été décrites chez *Acinetobacter baumannii*, certains variants comme GES-11 et surtout GES-14 pouvant conférer une résistance à toutes les  $\beta$ -lactamines, incluant les carbapénèmes (Bonnin et al., 2011). Plus récemment, la  $\beta$ LSE la plus répandue dans le monde, CTX-M-15, a été identifiée chez *Acinetobacter baumannii* (Poirel et al., 2011 ; Shakil et al., 2010) [181].

#### VII.4.2 $\beta$ -lactamase de classe C

Jusqu'à présent, le gène de la céphalosporinase chromosomiques n'a été identifié que dans quelques espèces d'*Acinetobacter* (*Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii* et *Acinetobacter baylyi*) (Ribera et al., 2004 ; Jacoby, 2009). En conséquence, ces enzymes représentent une famille distincte des  $\beta$ -lactamases de classe C appelées *Acinetobacter*-derived cephalosporinases (ADCs) [181]. Bien que la céphalosporinase AmpC d'*A. baylyi* (désignée comme ADC-8) était considérablement moins similaire que celle d'*A. pittii* (ADC-5) et d'*A. baumannii* (ADC- 7), la phylogénétique de toutes les céphalosporinases semblait évoluer d'un ancêtre commun (Beceiro et al., 2007) . Les gènes  $bla_{ADC}$  à *Acinetobacter baumannii* sont normalement exprimés à bas niveau (Jacoby, 2009). L'expression de ces gènes aux niveaux élevés est basée sur la présence d'un promoteur fort au sein d'une séquence d'insertion en amont dit ISAbal (Jacoby, 2009). C'est le principal mécanisme responsable de la résistance à la ceftazidime et d'autres céphalosporines à large spectre dans *Acinetobacter baumannii* (Hujer et al., 2006) . À ce jour, au moins 44 gènes de  $bla_{ADC}$  ont été identifiés (Huang et al., 2010) [181].

### VII.4.3 Résistance acquise aux carbapénèmes

#### VII.4.3.1. Les $\beta$ -lactamases de Classe B (métallo- $\beta$ -lactamases, M $\beta$ L)

Les déterminants les plus importants sont les dérivés de type IMP, VIM, SPM et NDM. Plusieurs variants d'IMP (IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5, IMP-6, IMP-8, IMP-11) et de VIM (VIM-1, VIM-2, VIM-4 et VIM-11) ont été détectés parmi les isolats du complexe *Acinetobacter baumannii* - *Acinetobacter calcoaceticus* (Lim et al. 2007 ; Huang et al. 2010 ; Poirel et al., 2006a ; Di Popolo et al., 2011) . SIM -1 a été décrite pour la première dans des isolats d' *Acinetobacter baumannii* en Corée (Lee et al., 2005) [181]. Les niveaux de résistance aux carbapénèmes conférés par SIM-1 sont inférieurs par rapport à ceux conférés par IMP et VIM (Lee et al., 2005). Tous les différents variants de blaIMP , blaVIM , et blaSIM chez *Acinetobacter baumannii* ont été trouvés sur des intégrons de classe 1 (Poirel et al. 2006 ). Un des derniers déterminants décrits, NDM-1 (New-Delhi Métallo- $\beta$ -Lactamase), a notamment largement été médiatisé et son importante capacité de dissémination cause un réel problème de santé publique (Rolain et al. 2010) [181].

Cette métallo- $\beta$ -lactamase a été détectée chez *Acinetobacter baumannii* (Karthikeyan et al. 2010 ; Chen et al., 2011). NDM- 2, un variant de NDM- 1 a récemment été trouvé dans des souches d' *Acinetobacter baumannii* chez une patiente en Allemagne venant de l'Égypte (Kaase et al. 2011) [181].

### VII.4.3.2. Les $\beta$ -lactamases de Classe D (appelées oxacillinases)

Les sous-groupes bla<sub>OXA-51-like</sub>, bla<sub>OXA-23</sub> et le variant bla<sub>OXA-134</sub> sont intrinsèquement présents dans *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter radioresistans* et *Acinetobacter lwoffii*, respectivement (Brown et al., 2005; Poirel et al., 2008b ; Figueiredo et al., 2010) [181].

#### ➤ Le sous-groupe OXA -23

OXA-23, à l'origine appelée ARI-1 pour "*Acinetobacter* resistant imipenem", elle a été identifiée en Ecosse en 1985 et isolée à partir d'un plasmide d'une souche d'*Acinetobacter baumannii*, qui possédait une CMI de l'imipénème de 16 $\mu$ g/ml (Paton et al., 1993 ; Donald et al., 2000). OXA-23 partage 99% d'identité en acides aminés avec OXA-27, qui a été mise en évidence à Singapour (Afzal-Shah et al., 2001). Le gène a été identifié dans de nombreux pays à travers le monde, il est intrinsèquement présent et situé sur le chromosome chez *Acinetobacter radioresistans* alors qu'il est acquis et porté par un plasmide chez *Acinetobacter baumannii*. Il a été trouvé uniquement chez l'espèce *Acinetobacter* à l'exception de *Proteus mirabilis* (Bonnet et al., 2002) [181].

#### ➤ Le sous groupe OXA-40

OXA-40 est une  $\beta$ -lactamase qui a une capacité d'hydrolyser principalement les pénicillines et beaucoup moins les céphalosporines et l'imipénème. Elle est résistante à l'inhibition par l'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam (Bou et al., 2000b ; Afzal-Shah et al., 2001; Heritier et al., 2003) et aussi au NaCl (Héritier et al., 2003) contrairement aux autres oxacillinases. Appelée précédemment OXA-24, elle a été identifiée en Espagne

chez des souches d'*Acinetobacter baumannii* résistantes aux carbapénèmes et elle présente 63% et 60% d'identité en acides aminés avec OXA-51/69 et OXA-23 respectivement (Bou et al., 2000b) [181]. Ce groupe comprend aussi les variants OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-33, OXA-72 OXA-139 et OXA-160 (Tian et al., 2011). Le gène OXA-40 a été trouvé chez plusieurs espèces d'*Acinetobacter spp.* ainsi que chez *Pseudomonas aeruginosa*, et peut être chromosomique ou plasmidique (Quinteira et al, 2007 ; Sevillano et al., 2009.). L'enzyme a été rapportée en Espagne et en Asie (Ruiz et al., 2007, Wang et al., 2007). Les OXA-25 et OXA-26 sont des mutants ponctuels d'OXA-40, ces enzymes ont été caractérisées à partir d'isolats d' *Acinetobacter baumannii* en provenance d'Espagne et de Belgique (Afzal-Shah et al., 2001) [181]. OXA-72 a été identifiée dans des isolats d'*Acinetobacter baumannii* de Chine (Wang et al., 2007), Corée du Sud (Lee et al., 2009b), Taiwan (Lu et al., 2009) et Bahreïn (Mugnier et al., 2009). OXA-160, un nouveau variant d'OXA-40, a récemment été identifié dans une souche d'*Acinetobacter baumannii* isolée aux Etats-Unis (Tian et al., 2011). Récemment, deux nouvelles carbapénémases, OXA-143 et OXA-182 ont été identifiées. OXA-182 partage 93% d'identité en acides aminés avec OXA-143 et 89% avec OXA-40 (Kim et al., 2010). La carbapénémase OXA-143 partage 88% d'identité en acides aminés avec OXA-40, 63% avec OXA-23 et 52% avec OXA-58 (Higgins et al. 2009) [181].

#### ➤ **Le sous-groupe OXA-51**

OXA-51 est une  $\beta$ -lactamase qui est intrinsèque et ubiquitaire chez *Acinetobacter baumannii* (Brown et al, 2005 ; Turton et al., 2006a). Le premier rapport d'OXA-51, était en 2005 dans des souches isolées en Argentine en 1996 (Brown et al., 2005) et un grand nombre de variants d'enzymes ont depuis été

découverts. OXA-51 présente moins de 63% d'identité en acides aminés avec les sous-groupes 1 (OXA-23-like), sous-groupe 2 (OXA-40-like) et moins de 50% avec le sous-groupe 4 (OXA-58-like). Les enzymes OXA-51-like représentent actuellement l'un des plus grands groupes de  $\beta$ -lactamases, avec 81 enzymes actuellement identifiées, elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ou le tazobactam et leur activité est inhibée par le NaCl (Poirel et al., 2008a). Le gène OXA-51 a initialement été identifié sur un support chromosomique et non-transférable [181]. Cependant, de récentes études et analyses par PCR pour blaOXA-51 indiquent que le gène est localisé sur un plasmide (Chen et al., 2010). Les gènes du sous-groupe OXA-51 identifiés chez *Acinetobacter baumannii* à l'exception d'OXA-138, ont été identifiés aussi chez *Acinetobacter nosocomialis* dans des souches isolées au Taiwan, suggérant que ces gènes peuvent être transférés entre les espèces du complexe *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* (Lee et al., 2009c) [181].

#### ➤ **Le sous groupe OXA-58**

Le gène bla<sub>OXA-58</sub> a été identifié pour la première en France à partir d'une souche isolée à Toulouse (France) en 2003 (Poirel et al., 2005) . L'enzyme hydrolyse les pénicillines, l'oxacilline mais pas les céphalosporines à spectre étendu, et elle hydrolyse l'imipénème deux fois plus efficacement que l'OXA-40. OXA-58 possède un faible pourcentage d'identité en acides aminés avec les autres oxacillinases. Les gènes codant pour OXA-58 ont été trouvés chez de nombreuses espèces d'*Acinetobacter* et sont généralement portés par un plasmide, bien que la localisation chromosomique a également été décrite (Bogaerts et al., 2006 ; Poirel et al., 2006b) [181]. Les isolats portant ce groupe de gènes sont les plus fréquemment rapportés en Europe même s'ils ont été

rapportés aussi en Amérique du Sud, en Amérique du Nord, en Asie et en Australie (Marqué et al., 2005 ; Bogaerts et al., 2006 ; Coelho et al., 2006 ; revu par Peleg et al., 2006 ; Wang et al., 2007 ; Zarrilli et al., 2008 ; Lee et al., 2009b ; Mendes et al., 2009a) [181].

#### **VII.4.4 Diminution de la perméabilité membranaire**

Une membrane externe imperméable, un faible nombre de porines et plusieurs autres caractéristiques constitutives jouent un rôle dans le comportement des *Acinetobacters* en ce qui concerne la capacité de résistance aux antibiotiques et la survie dans l'environnement. Une diminution des porines associée avec le mécanisme d'efflux empêchent l'absorption des antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii* (Hooper, 2005 ; Vila et al., 2007) [181]. Des modifications de la perméabilité membranaire d' *Acinetobacter baumannii* peuvent entraîner une résistance aux carbapénèmes. La protéine de la membrane externe la plus importante chez *Acinetobacter* est HMP-AB, un membre de la famille des OmpA (Walzer et al., 2006). Elle partage une identité de séquence et des similitudes structurelles avec OprF de *Pseudomonas aeruginosa* et OmpA d' *Escherichia.coli* (Gribun et al., 2003). Ainsi, la perte d'une autre protéine de membrane externe CarO, secondaire à l'interruption du gène carO par différentes séquences d'insertion (notamment ISAba825) peut être à l'origine d'une résistance aux carbapénèmes (Mussi et al., 2005) [181].

#### **VII.4.5 Efflux**

L'implication de systèmes d'efflux naturels ou acquis dans la multirésistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii* est de plus en plus étudiée (Coyne et al., 2011). Parmi les superfamilles de pompes à efflux, les systèmes RND (Resistance-Nodulation-Division) sont les plus prévalents chez *Acinetobacter baumannii* [181]. Les systèmes “Multidrug And Toxic compound Extrusion” (MATE), et “major facilitator superfamily (MFS)” ont été également impliqués (Magnet et al., 2001). Les pompes RND comme les pompes AdeABC, AdeDE, AdeIJK et AdeXYZ, contribuent à la virulence d'*Acinetobacter spp.* (Roca et al., 2011). La surexpression d'AdeABC est associée à une augmentation du niveau de résistance à l'imipénème et au méropénème, surtout lorsqu'elle est associée à l'expression d'enzymes de type CHDL (Héritier et al., 2005). La pompe AdeIJK est capable d'effluer les  $\beta$ -lactamines, le chloramphénicol, les tétracyclines, l'érythromycine, les lincosamides, les fluoroquinolones, l'acide fusidique, la rifampicine, la novobiocine et le triméthoprim (Damier-Polle et al., 2008) [181].

#### **VII.4.6 Modification de PLPs**

Une modification des PLPs à l'origine de la résistance aux carbapénèmes chez *Acinetobacter baumannii* n'a été que très rarement investiguée mais il semble que la régulation de l'expression des PLPs puisse être associée à une diminution de sensibilité aux carbapénèmes (Fernandez-Cuenca et al., 2003) [181].



*Pneumocoque  
multirésistant*

## VIII. PNEUMOCOQUE MULTIRESISTANT

### VIII.1 Taxonomie

*Streptocoque pneumoniae* appartient à la famille des *Streptococcaceae*, au genre *Streptococcus*. Ce genre comprend actuellement 44 espèces et sous-espèces, regroupées en trois ensembles : pyogènes, oraux et du groupe D. [182]

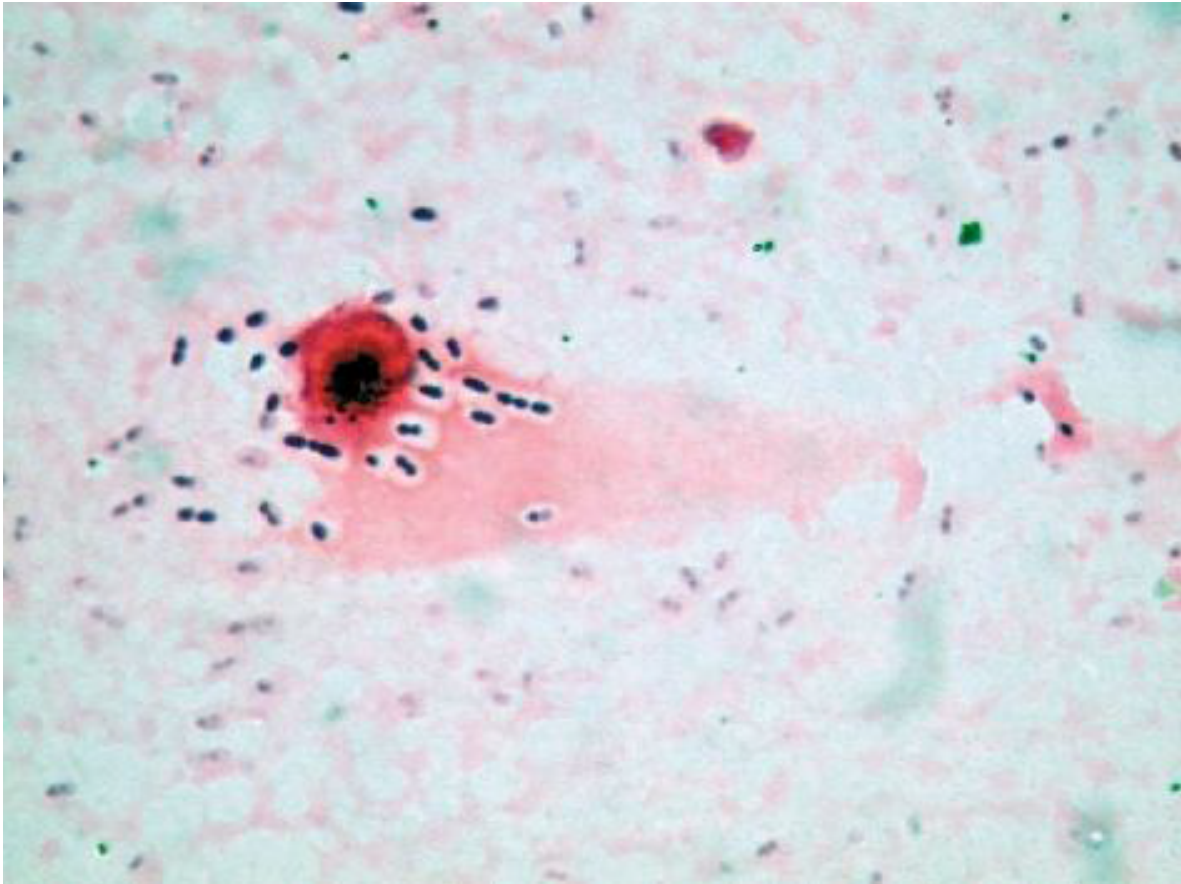
*Streptocoque pneumoniae* est inclus dans l'ensemble des streptocoques oraux, mais reste dans le Bergey's manual, édition 1986, parmi les streptocoques pyogènes pour son pouvoir pathogène.

Sur des critères de pathogénicité et d'identification pratique, les *streptocoques* oraux sont regroupés en cinq sous-ensembles (or1, or3 à or6). Le *Streptocoque pneumoniae* constitue à lui seul le sous-ensemble or3. [183, 184]

### VIII.2 Morphologie

Le *Streptocoque pneumoniae* se présente comme un cocci à Gram positif de diamètre inférieur à 2  $\mu\text{m}$ , immobile et asporulé. Il est groupé en diplocoque ou en courte chaînette.

Dans les produits pathologiques, l'aspect typique est celui de cocci lancéolés, appariés par leurs extrémités pointues, à Gram positif, entourés d'une capsule souvent difficile à voir (Fig 33)



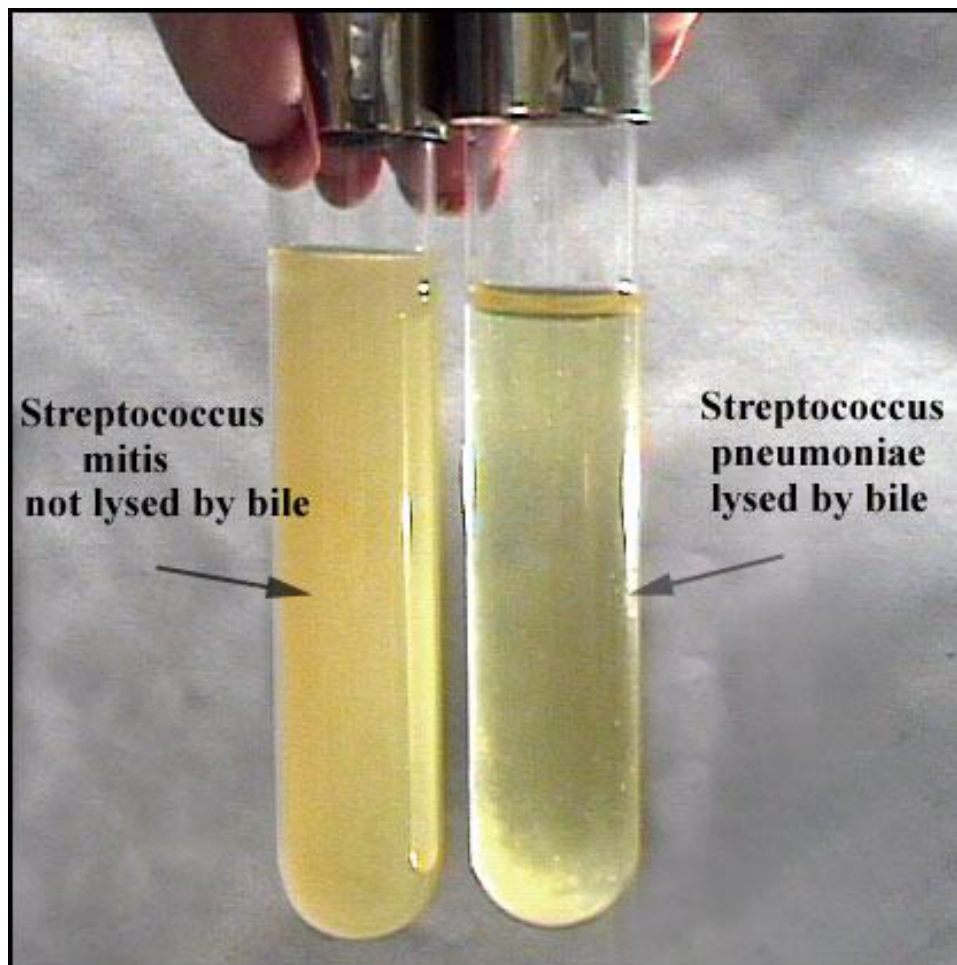
**Figure 33** : la coloration de Gram d'un *S. pneumoniae* dans du liquide céphalorachidien [182].

### **VIII.3 Diagnostic du pneumocoque :**

Le diagnostic repose sur la culture, la détection d'antigènes bactériens et l'amplification génique. L'interprétation de l'implication du pneumocoque dans une infection ne pose pas de problème lorsque la bactérie est mise en évidence à partir d'un prélèvement normalement stérile : sang, liquide céphalorachidien (LCR) ou liquide d'oreille moyenne. Dans les infections respiratoires, la présence possible de cette bactérie à l'état commensal implique de prendre en compte sa quantité dans l'échantillon [185].

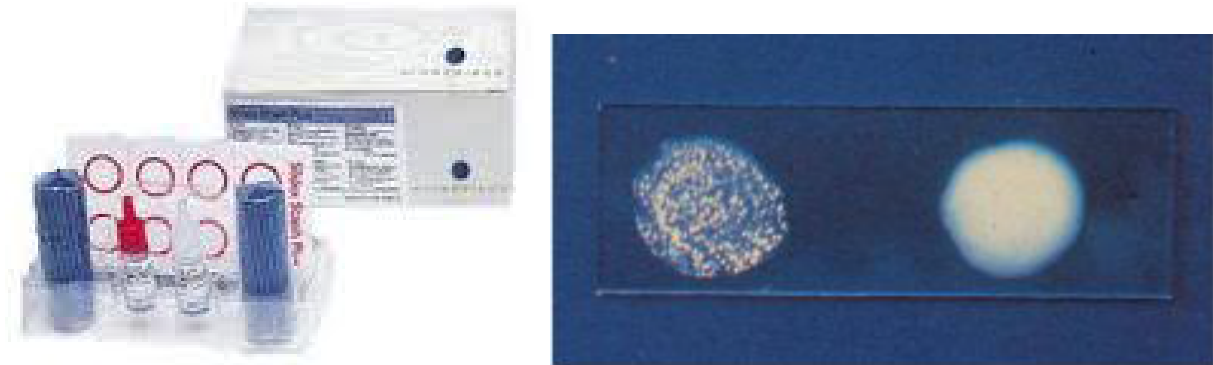
#### **VIII.3.1 La culture**

La culture est la technique de référence pour le diagnostic d'une infection à pneumocoque. Le diagnostic est orienté par l'aspect de la coloration de Gram (diplocoques à Gram positif lancéolés en "flammes de bougie" ou sous forme de courtes chaînettes) et celui des colonies (alpha-hémolytiques, lisses, bombées, brillantes après 18 à 24 h d'incubation à 37 °C). Pour le confirmer, le test le plus utilisé est la sensibilité à l'optochine : un diamètre supérieur à 14 mm autour d'un disque chargé à 5 µg est en faveur d'un pneumocoque. Toutefois ; 0,5 à 5 % des pneumocoques sont résistants à l'optochine et quelques *Streptococcus viridans* y sont sensibles [185]. En cas de doute, un test de lyse par la bile (Fig 34), plus spécifique, est recommandé (éclaircissement d'une suspension dense de la bactérie à identifier après addition de quelques gouttes d'une solution de désoxycholate de sodium à 10 % et incubation 30 min à 37°C).



**Figure 34** : lyse des colonies de *Streptocoque pneumoniae* par la bile [186]

L'utilisation d'une technique d'agglutination de particules de latex sensibilisées avec des Ac reconnaissant les différents sérotypes capsulaires (Slidex® pneumo-kit Mérieux) (Fig 35) peut également orienter l'identification.



**Figure 35 :** Slidex pneumo-kit® (bioMérieux) [186]

Toutefois, ce test peut être pris en défaut, notamment avec *Streptocoque oralis* et *Streptocoque mitis*. Ce réactif peut être utilisé directement sur produits pathologiques. Les pneumocoques se développent bien dans les hémocultures, mais les taux d'hémocultures positives chez les adultes dans les pneumonies aiguës communautaires (PAC) ne sont que de 20 % (10 % chez l'enfant) [185]. Dans les méningites, les hémocultures sont positives dans plus d'un cas sur deux. Ces résultats s'expliquent probablement par la quantité de bactéries dans le sang qui peut être faible, l'administration fréquente d'antibiotiques et le caractère intermittent de la bactériémie. D'où l'intérêt de tests complémentaires.

### VIII.3.2 Test immunochromatographique

Le test immunochromatographique (ICT) Now S. pneumoniae® Binax constitue l'un des progrès les plus importants pour la mise en évidence d'une infection par le *pneumocoque*. Ce test de recherche d'Ag solubles s'effectue en 15 min à partir d'un échantillon d'urines ou de LCR (Annexe 5)(Fig 36) [185].



**Figure 36 :** BinaxNOW Streptocoque pneumoniae .test de l'antigène urinaire présentant un résultat positif à gauche et un résultat négatif à droit [186]

## VIII.4 Pneumocoque et la résistance aux $\beta$ -lactamines

### VIII.4.1 Historique et mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines :

Les pneumocoques sont naturellement très sensibles aux bêta-lactamines avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) très basses : 0,004 à 0,06 mg/L pour pénicilline G, ampicilline, amoxicilline et cefotaxime [187]. En Australie, en 1967, ont été décrits les premiers isollements de pneumocoques avec des CMI augmentées pour la pénicilline G (0,12- 1 mg/L) [188] ; ces souches dites de "sensibilité diminuée" restent accessibles à un traitement par forte dose de pénicilline, même dans les méningites. En Afrique du Sud, en 1977, des souches avec des CMI de la pénicilline encore plus élevées (CMI > 1 mg/L) et multi résistantes ont été isolées. Elles étaient responsables d'échecs thérapeutiques lors de méningites traitées à forte dose de pénicilline [189]. En France, les premiers cas de pneumocoques de sensibilité diminuée ont été décrits en 1979 [190,191].

Le mécanisme de la résistance repose sur une modification des cibles des  $\beta$ -lactamine : les protéines de liaison à la pénicilline (PLP). *Streptococcus pneumoniae* possède 6 PLP : PLP 1a, PLP 1b, PLP 2a, PLP 2x, PLP 2b, PLP 3. Les PLP 2b et 2x sont principalement concernés pour l'action de la pénicilline G. Chaque  $\beta$ -lactamine inhibe plusieurs PLP qui diffèrent selon les molécules d'antibiotique. Ces modifications font suite à une mutation ponctuelle ou à une recombinaison génétique par transfert de gènes de PLP issues d'espèces voisines de la sphère oro-pharyngée (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*) qui aboutit à la formation de gènes mosaïques. Ces espèces donneuses ont acquis la résistance aux pénicillines [192]. La modification des PLP entraîne une augmentation des CMI de toutes les  $\beta$ -lactamine, mais l'ampleur de cette augmentation est variable selon les molécules. Selon le nombre et la nature des PLP modifiées, les CMI des différentes  $\beta$ -lactamine augmentent de façon

imprévisible. C'est la raison pour laquelle il est recommandé de déterminer la CMI de la  $\beta$ -lactamine utilisée en cas d'infection sévère, d'échec clinique et de souches suspectées d'être des PSDP lors du screening microbiologique [192]. En général, certaines  $\beta$ -lactamine sont aussi actives ou légèrement plus actives que la pénicilline G sur la quasi-totalité des souches : l'ampicilline, l'amoxicilline, le céfotaxime, la ceftriaxone, le céfépime, le ceftiofime, le céfuroxime et l'imipénème . L'isolement exceptionnel de souches sensibles à l'amoxicilline et résistantes au céfotaxime empêche de déduire la sensibilité du céfotaxime et de la ceftriaxone de celle de l'amoxicilline et doit conduire à la mesure des CMI des antibiotiques prescrits [192].

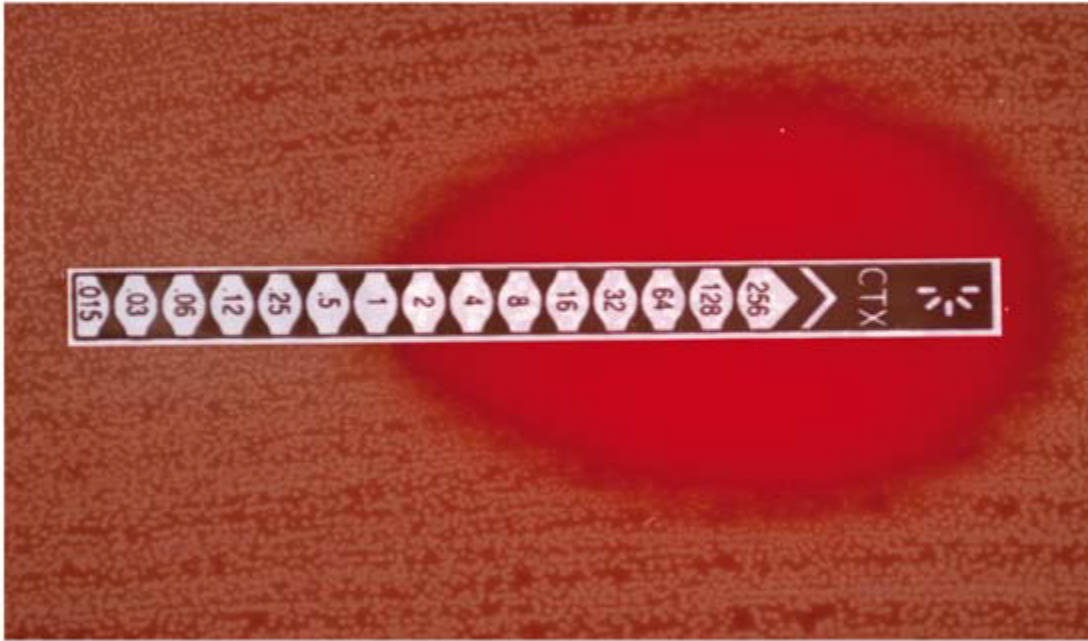
#### **VIII.4.2 Mesure de la sensibilité aux B-lactamines :**

La détection de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G est réalisée avec un disque d'oxacilline 5 mg (OXA-5) selon les critères suivants :

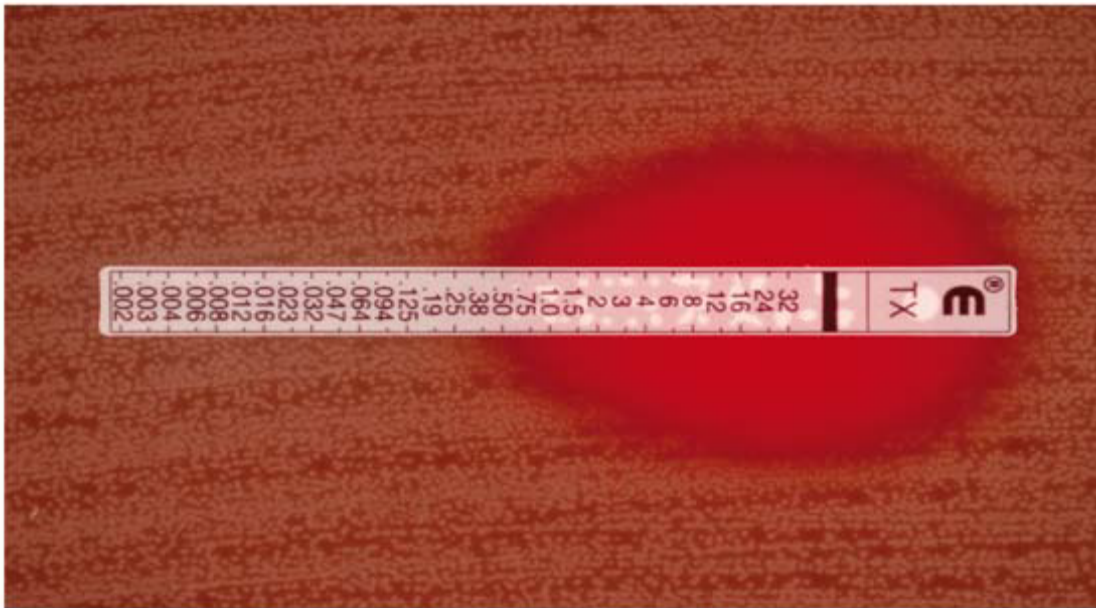
- diamètre OXA-5  $\geq$  26 mm : souche sensible à la pénicilline G et aux autres  $\beta$ -lactamine.
- diamètre OXA-5  $<$  26 mm : souche de sensibilité diminuée.

Ce test ne peut pas apprécier le niveau de résistance à la pénicilline G ou aux autres  $\beta$ -lactamine. L'utilisation d'autres disques de  $\beta$ -lactamine ne permet pas de déterminer le niveau de résistance à ces  $\beta$ -lactamine. En conséquence, notamment en cas d'infection sévère, d'échec clinique ou devant toute souche de sensibilité diminuée (OXA-5  $<$  26 mm), il y a lieu de déterminer la CMI de la pénicilline G et celle d'au moins une des  $\beta$ -lactamine dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique [192].

L'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient de concentrations d'antibiotique permet, en routine, une détermination de la CMI par tout laboratoire (E-test® et MICE®) (fig 37, 38).



**Figure 37** : Mesure de la CMI du cefotaxime sur une souche de *Streptococcus pneumoniae* a l'aide d'une bandelette imprégnée d'antibiotique "CTX" [192].



**Figure 38** : Mesure de la CMI de la ceftriaxone sur une souche de *Streptococcus pneumoniae* a l'aide d'une bandelette imprégnée d'antibiotique. [192]

L'utilisation de bandelettes bien conservées est fondamentale : absence d'humidité, suivi très strict de la température de conservation recommandée, respect de la mise en température. Si ces conditions ne sont pas respectées, des erreurs grossières dues à des bandelettes déchargées conduisent à des surévaluations de la CMI. Lors des évaluations, ces CMI mesurées par ces techniques sont bien corrélées aux valeurs obtenues avec la méthode de référence . En pratique, il est exceptionnel de mesurer des valeurs de CMI supérieures à 4 µg/mL pour l'amoxicilline et le céfotaxime [192].

### **VIII.5 Pneumocoque et résistance aux Macrolides apparentés**

Les CMI d'un pneumocoque sensible à l'érythromycine sont de l'ordre de 0,01 à 0,06 mg/L [193].

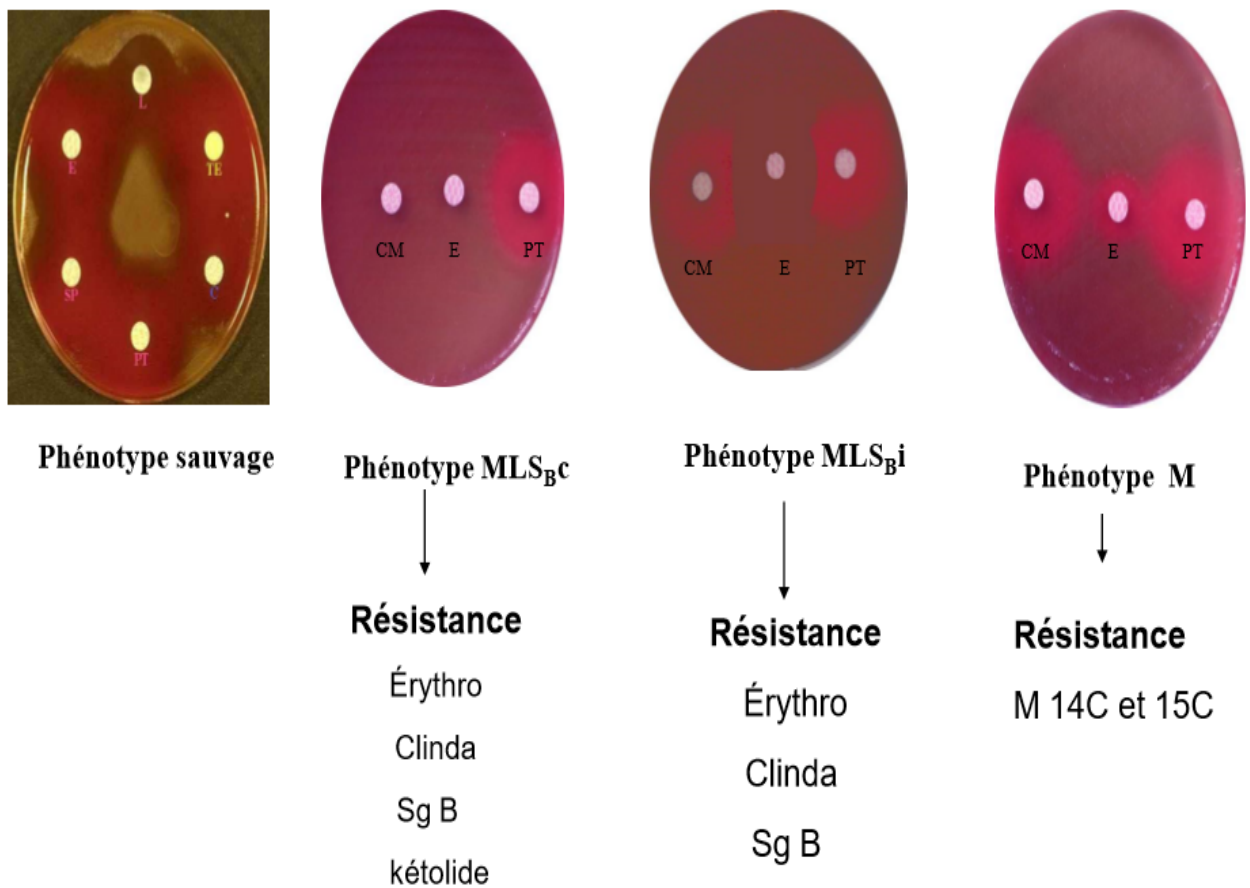
#### **VIII.5.1 Mécanismes de résistance**

##### **➤ Résistance de phénotype MLSB**

Les souches de pneumocoque résistantes à l'érythromycine produisent une enzyme qui modifie la cible de l'antibiotique : une méthylase modifie l'ARN ribosomal 23s en diméthylant une adénine. Cette résistance est sous la dépendance du gene *emtAM*. L'expression de cette résistance est inductible ou constitutive. Dans les deux cas, la résistance concerne les macrolides à noyau lactone à 14 atomes (Erythromycine, oleandomycine, roxithromycine, clarithromycine, dirithromycine), à 15 atomes (azythromycine) et à 16 atomes (josamycine, spiramycine, midecamycine), les lincosamides (lincomycine et clindamycine) et les streptogramines du groupe B (pristinamycine I et quinupristine). Cette résistance s'exprime à haut niveau (CMI > 64 mg/L). Les streptogramines du groupe A (pristinamycine II et dalfopristine) ne sont pas concernées. La pristinamycine et l'association quinupristine-dalfopristine restent actives.

➤ **La Résistance de phénotype M par efflux**

Cette résistance qui consiste à rejeter l'antibiotique en dehors de la bactérie concerne uniquement les macrolides à noyau lactone à 14 et 15 atomes. Elle est sous la dépendance du gène *meffE*. Elle s'exprime à plus faible niveau que celle de type MLS, les CM1 de l'érythromycine sont de l'ordre de 8-16 mg/L (Fig 39).



**Figure 39:** différents phénotypes de résistance du *S pneumoniae* aux macrolides apparentés [194]

## **VIII.6 Peumocoque et linézolides**

Le linézolide appartient à une nouvelle classe d'anti- microbiens obtenus par synthèse : les oxazolidinones. L'activité de cette molécule testée sur 118 souches françaises est satisfaisante , CM1 50 : 1 mg/L et CM1 90 : 2 mg/L. Aucune souche n'avait une CM1 supérieure a 2 mg/L [195].

## **VIII.7 Peumocoque et glycopeptides**

La vancomycine et la teicoplanine sont actives contre le pneumocoque, les CM1 se situant entre 0,04 et 1 mg/L pour la vancomycine [187]. L'utilisation de la vancomycine est recommandée en association à la ceftriaxone ou au céfotaxime dans les méningites à PNSP [196]. Aucune résistance à la vancomycine n'a été décrite mais des souches tolérantes ont été signalées [197,198].

## **VIII.8 Peumocoque et quinolones**

Les fluoroquinolones, commercialisées dans les années 1980 (pefloxacine, ofloxacine et ciprofloxacine), ont une activité contre les entérobactéries, les pyocyaniques et les staphylocoques, mais sont peu actives sur le pneumocoque. De nombreuses molécules plus récentes présentent une réelle activité sur ce germe : sparfloxacine, temafloxacine, lévofloxacine, grepafloxacine, trovafloxacine, moxifloxacine, gatifloxacine, clinafloxacine, sitafloxacine, gemifloxacine. La commercialisation de la sparfloxacine a été arrêtée en France, celle de la temafloxacine a été arrêtée aux états-Unis sans jamais avoir été commercialisée en France pour des raisons de toxicité. En France, le lévofloxacine et la moxifloxacine ont obtenu une Autorisation de mise sur le marché. D'autres molécules comme gemifloxacine, gatifloxacine,

grepafloxacin et clinafloxacin sont en développement. Les CMI pour la souche de pneumocoque sauvage R6 sont les suivantes : pefloxacin : 8 mg/L, ciprofloxacin : 1 mg/L, sparfloxacin : 0,25 mg/L, trovafloxacin : 0,25 mg/L, grepafloxacin : 0,25 mg/L, moxifloxacin : 0,12 mg/L [199]. Les CMI 50 de 13 molécules vis-à-vis du pneumocoque sont les suivantes [200] : ofloxacin : 2 mg/L ; ciprofloxacin : 2 mg/L ; fleroxacin : 8 mg/L ; sparfloxacin : 0,25 mg/L ; levofloxacin : 1 mg/L ; grepafloxacin : 0,25 mg/L ; tosufloxacin : 0,25 mg/L, gatifloxacin : 0,25 mg/L ; moxifloxacin : 0,25 mg/L ; trovafloxacin : 0,12 mg/L ; clinafloxacin : 0,12 mg/L ; gemifloxacin : 0,03 mg/L ; sitafloxacin : 0,03 mg/L. Les performances relatives sont mieux cernées lorsqu'on mesure l'activité sur des souches de pneumocoques ayant une CMI > 4 mg/L à la ciprofloxacin (souches non sauvages vis-à-vis des fluoroquinolones) [201]. Sur de telles souches, la moxifloxacin et la gemifloxacin présentent une excellente activité in vitro.

#### ➤ Mécanisme de la Résistance aux fluoroquinolones

D'une part, la résistance aux fluoroquinolones est liée à des mutations sur la cible des 2 topo-isomérases qui ont la capacité de catalyser les réactions de conversion entre différentes formes topologiques de l'ADN: mutation sur l'ADN gyrase (mutations essentiellement dans la sous-unité GyrA, et plus rarement GyrB) et mutation sur la topo-isomérase de type IV (essentiellement dans la sous-unité ParC, et plus rarement ParE) [202-206]. Les principales mutations ponctuelles impliquées dans la résistance sont localisées dans des régions appelées QRDR (quinolone résistance-determining région). D'autre part, il existe un mécanisme de résistance dû à l'augmentation d'un efflux naturel qui empêche l'antibiotique d'accéder à sa cible [207,208]. Mis en présence d'une fluoroquinolone in vitro, on voit apparaître des mutations dans ParC ou GyrA

selon la molécule utilisée. Cette première mutation aboutit à un bas niveau de résistance. Dans ce cas, les nouvelles fluoroquinolones sont encore actives, avec un risque de sélection de mutant résistant. En effet, une mutation supplémentaire dans l'autre cible est nécessaire pour aboutir à un haut niveau de résistance, les nouvelles fluoroquinolones devenant alors inactives. D'où la nécessité pour le bactériologiste de détecter les bas niveaux de résistance aux fluoroquinolones. Comme les souches qui possèdent ce bas niveau de résistance sont catégorisées sensibles, on peut suggérer de n'utiliser les fluoroquinolones sur ces souches qu'en cas de nécessité et avec précaution [209].

### **VIII.9 Pneumocoque et sulfamides, triméthoprime et cotrimoxazole**

La résistance aux sulfamides est liée à une modification du gène codant pour la dihydroptéroate synthétase et la résistance au triméthoprime a une mutation dans le gène de la dihydrofolate réductase. En France en 1999, 50,4 % des souches isolées chez l'enfant et 37,9 % des souches isolées chez l'adulte sont résistantes à l'association cotrimoxazole [210] On rapporte 30,3 % de résistance aux Etats-Unis en 1999-2000 [211].

### **VIII.10 Pneumocoque et Rifampicine**

Les souches de pneumocoque sauvage ont des CM1 de 0,06 à 12 mg/L à la rifampicine [ 187]. Les souches deviennent résistantes par des mutations portant sur le gène *rpoB* codant pour l'ARN polymérase ADN dépendante. Les souches résistantes à cet antibiotique sont rares : 0,7 % chez l'enfant et 0,4 % chez l'adulte en France en 1999 [ 210]. A noter l'apparition de mutants in vivo si cet antibiotique est prescrit en monothérapie.

### **VIII.11 Pneumocoque et les tétracyclines**

Les souches de pneumocoque sauvage présentent des CM1 de l'ordre de 0,06-2 mg/L à cet antibiotique . Les souches résistantes ont fait l'acquisition d'un gène tetM agissant au niveau du ribosome. En France, en 1999, 39,1 % des souches isolées chez l'enfant et 29,9 % des souches de l'adulte étaient résistantes à cet antibiotique [ 210]. En 1999-2000 aux Etats-Unis, 16,3 % des souches étaient résistantes à la tétracycline [ 211].

### **VIII.12 Pneumocoque et chloramphénicol**

Les CM1 des souches de pneumocoque sauvage s'échelonnent de 1 à 4 mg/L. Les souches résistantes ont acquis une chloramphénicol-acétylase responsable de l'inactivation de cet antibiotique. 29,1 % des souches isolées chez l'adulte et 22,7 % des souches isolées chez l'enfant en France en 1999 sont résistantes au chloramphénicol [ 210]. Un taux de 8,3 % de résistance est rapporté aux États-Unis en 1999-2000 [ 211].

### **VIII.13 Pneumocoque et aminosides**

Naturellement résistant à bas niveau à l'ensemble des aminosides, *S. pneumoniae* est exceptionnellement résistant à la gentamicine et fréquemment résistant à la kanamycine (croisée avec l'amikacine).

Le gène qui code pour la résistance à la kanamycine est le plus souvent situé sur un transposon qui contient un gène de résistance tetH et ermB [212].



*Enterocoque resistant  
à la vancomycine*

## **IX. ENTEROCOQUE RESISTANT A LA VANCOMYCINE**

### **IX.1. Caractères généraux**

Les *entérocoques* sont des bactéries à Gram positif, non sporulantes qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en chaînettes et dont le génome contient un faible pourcentage en G+C (37,5 à 44 %). Ce sont des organismes anaérobies aérotolestants, oxydase et catalase négatives (Fig 40) [213].

En 1984, les expériences d'hybridation ADN-ADN et l'analyse des séquences des ARNr16S ont permis de montrer que les espèces *Streptococcus faecium* et *Streptococcus faecalis* étaient suffisamment distinctes des autres streptocoques pour justifier leur transfert dans le genre *Enterococcus*. A ce jour, 33 espèces forment le genre *Enterococcus* [213]. Cependant, l'évolution des techniques de taxonomie, ainsi que l'intérêt grandissant pour ce groupe de bactéries laisse augurer d'autres réarrangements possibles dans la phylogénie de ce genre. Les *entérocoques* ont une température de croissance optimale de 35 °C bien que la plupart des espèces de ce genre peuvent croître à des températures allant de 10 à 45 °C. Ils peuvent aussi croître en présence de 6,5 % de NaCl, à pH 9,6 ; et ils survivent à un traitement de 60 °C pendant 30 min (certaines exceptions existent quant à ces capacités). De part leur faculté à métaboliser les sucres en produisant (majoritairement) de l'acide lactique, les entérocoques appartiennent également au groupe des bactéries lactiques. La plupart des *entérocoques* appartiennent au groupe sérologique D de la classification de Lancefield [213].



**Figure 40** : Aspect d'un *Entérocooccus faecalis* en microscope optique [213]

## **IX.2 Mécanisme de résistance**

L'acquisition de résistance par les *Entérocoques* fut observée chez des *Entérocooccus faecalis* présentant une résistance de haut niveau à la gentamicine la résistance aux trois grandes classes d'agents antibactériens (les bêta-lactamines, les glycopeptides, les aminosides) communément utilisés dans les infections à *entérocoques* limite les options thérapeutiques et pose de réels problèmes de santé publique à partir de l'année 2011 [214]. Les entérocoques sont naturellement résistants aux céphalosporines et aux sulfamides tandis qu'ils présentent une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides. Certaines espèces, dont *Entérocoques faecalis*, sont aussi naturellement résistantes aux

lincosamides et aux streptogramines A. De plus, ils acquièrent facilement des résistances supplémentaires par mutation ( $\beta$ -lactamine, fluoroquinolones, rifampicine et l'acide fusidique) ou transfert de gènes (aminosides, glycopeptides, macrolides, tétracyclines et le chloramphénicol) [214]. Ces transferts sont basés sur des mécanismes moléculaires ce qui permet aux *entérocoques* de promouvoir une stabilité de résistance aux antibiotiques à travers les générations ou lors des transferts horizontaux inter espèces de plasmides de résistance. Ce système, appelé toxine-antitoxine, a été décrit la première fois sur des plasmides chez l'*Escherichia coli*. Les transferts horizontaux d'éléments génétiques mobiles se produisent principalement dans le tractus gastro-intestinal qui comporte de très nombreuses familles de bactéries, elles-mêmes soumises à une pression de sélection induite par les antibiotiques [214].

### **IX.2.1 Résistance aux $\beta$ -lactamines**

Les  $\beta$ -lactamines agissent par inhibition des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) qui ont essentiellement une fonction DD-transpeptidase (intervenant dans la biosynthèse et le remodelage du peptidoglycane). Il existe de nombreuses classes de PLP, le profil et le nombre de chaque PLP varient en fonction de l'espèce bactérienne [214]. Les DD-transpeptidases décrites chez les *entérocoques* sont multimodulaires et réparties en deux classes : classe A (à activité transglycosylasique et transpeptidasique) et classe B (à activité transpeptidasique). L'analyse du génome de *Entérocoques faecium* et de *Entérocoques faecalis* a permis de mettre en évidence trois PLP de classe A et trois PLP de classe B. À noter que l'association des PLP avec les aminosides est synergique sur les *entérocoques* tandis que l'effet est additif ou indifférent avec les fluoroquinolones [214].

### **IX.2.1.1 Résistance naturelle**

Les *entérocoques* possèdent une PLP5 présentant une faible affinité pour les  $\beta$ -lactamines, expliquant notamment la résistance aux céphalosporines et l'augmentation de dix à 100 fois des CMI des PLP par rapport à celles des streptocoques [214].

### **IX.2.1.2 Résistance acquise**

Chez *Entérocoques faecium*, la résistance aux  $\beta$ -lactamines est fréquente et elle est due à des mutations au niveau de la PLP5, associées ou non à une hyperproduction de la PLP5.

La production de pénicillinase plasmidique transférable a exceptionnellement été décrite chez les souches de *Entérocoques faecalis* aux États-Unis, Argentine et Liban mais jamais en Europe. Cette pénicillinase, dont l'expression est constitutive, est sensible à l'action des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases.

Cette résistance est souvent associée à une résistance de haut niveau à la gentamicine (annexe 7) [214].

### **IX.2.2 Résistance aux Glycopeptides**

Les glycopeptides représentent une famille d'antibiotiques bactéricides à spectre d'action étroit dirigé contre les bactéries à Gram positif. Les représentants majeurs en médecine humaine sont la vancomycine et la téicoplanine. Les glycopeptides, ne pénétrant pas dans le cytoplasme, agissent donc à l'extérieur de la bactérie, lors des dernières étapes de maturation du peptidoglycane. Plus précisément, la molécule se fixe avec grande affinité à l'extrémité des précurseurs du peptidoglycane se terminant par le dipeptide

D-alanyl-D-alanine. La fixation provoque un encombrement stérique qui empêche le branchement du précurseur au peptidoglycane en cours d'élongation et bloque ainsi les étapes finales de formation de la paroi bactérienne [214].

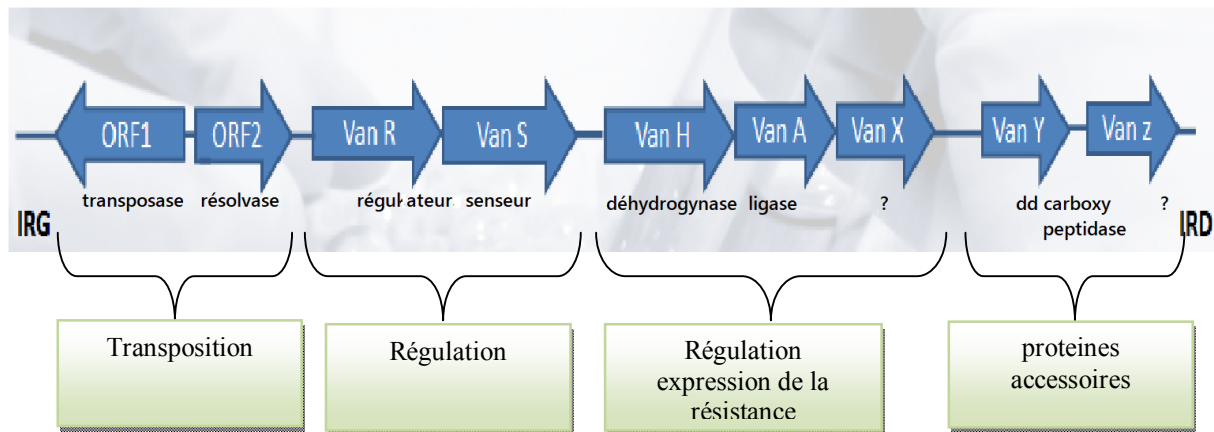
#### **IX.2.2.1 Résistance naturelle**

La résistance naturelle est observée chez *Enterococcus gallinarum* et *Enterococcus casseliflavus*. En effet, ces espèces contiennent au niveau chromosomique un opéron vanC qui confère une résistance de bas niveau à la vancomycine (CMI = 2—32 mg/L) tandis que la téicoplanine reste active [214].

#### **IX.2.2.2 Résistance acquise**

Le mécanisme moléculaire de la résistance aux glycopeptides chez les *entérocoques* est une modification de la cible de l'antibiotique : le dipeptide de l'extrémité du précurseur ; Les gènes nécessaires à l'expression de la résistance aux glycopeptides sont portés par le transposon Tn1546 qui semble responsable de la dissémination de cette résistance chez les entérocoques par transposition sur des plasmides auto-transférables à large spectre d'hôtes. le Tn1546 code pour neuf protéines dont trois, vanH, vanA et vanX, sont nécessaires à l'expression de la résistance aux glycopeptides [214]. Les six autres gènes ont des fonctions de transposition (orfI et orfII), de régulation (vanR, vanS) ou sont des gènes accessoires (vanY, vanZ) probablement impliqués dans la biosynthèse du peptidoglycane bactérien (Fig 41) . La coopération des trois gènes de résistance, dont la protéine VanA qui code pour une D-alanine-D-alanine ligase permet la synthèse de précurseurs du peptidoglycane comportant une extrémité D-alanine-D-lactate au lieu du dipeptide D-alanyl-D-alanine usuel. Chez les souches sensibles, l'affinité des glycopeptides pour les précurseurs contenant

un D-alanyl-D-alanine terminal permet la formation d'un complexe antibiotique-précurseur qui bloque la synthèse du peptidoglycane bactérien. Alors que chez les souches résistantes, la faible affinité des glycopeptides pour les précurseurs avec une extrémité desipeptidique (D-alanine-D-lactate) est responsable de la résistance [214].



**Figure 41** : Carte du transposon Tn1546

### IX.2.3 Résistance aux Aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides qui agissent en se liant principalement à l'ARN ribosomal 16S de la sous-unité 30S du ribosome bactérien, altérant ainsi la synthèse protéique de la paroi bactérienne. Bien que les *entérocoques* fassent partie des espèces bactériennes présentant une résistance de bas niveau aux aminosides, ces derniers sont toutefois utilisés pour leur activité synergique avec les  $\beta$ -lactamines et les glycopeptides dans le traitement des infections sévères à entérocoques [214].

### **IX.2.3.1 Résistance naturelle**

La pénétration des aminosides au niveau du cytoplasme bactérien nécessite l'implication de la force proton-motrice produite par la chaîne respiratoire, qui est incomplète chez les *streptocoques* et les *entérocoques* (expliquant la résistance de bas niveau) et absente chez les bactéries anaérobies strictes (expliquant la résistance de haut niveau). De plus, l'espèce *Entérocoques faecium* produit naturellement une enzyme chromosomique, l'aminoside acétyltransférase AAC(6')-Ii, qui inactive tous les aminosides sauf la streptomycine et la gentamicine [214].

### **IX.2.3.2 Résistance acquise**

Trois mécanismes de résistance peuvent être retrouvés chez les *entérocoques* : altération de la cible ribosomale par mutation chromosomique, défaut de perméabilité et inactivation enzymatique.

Le dernier mécanisme est le plus fréquent avec trois classes d'enzymes : aminoside-O phosphotransférase (APH), aminoside-O acétyltransférase (AAC) et aminoside-O nucléotidyltransférase (ANT) [214]. Les souches d'entérocoques peuvent ainsi porter jusqu'à trois gènes de résistance aux aminosides. Le gène *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, porté par un transposon ou un plasmide, code pour une enzyme bifonctionnelle AAC(6')-APH(2'') exprimé par plus de 90 % des *entérocoques* présentant une résistance de haut niveau à la gentamicine. Les autres enzymes communément identifiées sont codées par les gènes *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*, ou *aph(2'')-Ib* [214].

#### **IX.2.4 Résistance aux Macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS)**

Les macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS) sont des antibiotiques distincts chimiquement mais regroupés de part leurs modes d'action proches. Ils inhibent la synthèse protéique en se liant à la sous-unité 50S du ribosome au niveau du centre peptidyltransférase [214].

L'espèce *Entérocoques faecalis* présente une résistance naturelle aux lincosamides et aux streptogramines A (phénotype LSA), associée au gène *lsa*, spécifique de l'espèce. Ce type de résistance s'observe également chez *Enterococcus avium*, *Entérocoques gallinarum*, *Entérocoques casseliflavus*, contrairement aux espèces *Entérocoques faecium*, *Enterococcus durans* et *Enterococcus hirae* qui sont naturellement sensibles aux lincosamides et aux streptogramines A [214].

##### **IX.2.4.1 Résistance acquise**

La résistance acquise est le fait de trois mécanismes : une modification de cible bactérienne par méthylation du site de fixation de l'antibiotique (gènes *erm*, correspondant au phénotype MLSB), une modification enzymatique de l'antibiotique (gènes *lnu*, correspondant au phénotype L) ou un efflux actif (gène *mef*, correspondant au phénotype M et le gène *msrC*, ubiquitaire chez *E. faecium*) [214].

### **IX.3 Tests de sensibilité aux antibiotiques**

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques se fait selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé avec des disques d'antibiotiques.

Ces tests consistent à déposer à la surface d'une gélose Mueller-Hinton des disques de papier buvard imprégnés des différents antibiotiques testés. Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose et détermine des concentrations d'antibiotiques inversement proportionnelles à la distance par rapport au disque. Avant de déposer les disques, on ensemence uniformément la surface de la gélose avec le micro-organisme à étudier. L'inoculum doit être dense (opacité équivalente à 0,5 sur l'échelle de Mac Farland). Après une incubation de 24 à 48 heures à

37 °C, les disques apparaissent entourés d'une zone d'inhibition dont le diamètre permet d'estimer et de comparer les concentrations minimales d'inhibition. Une batterie de 13 antibiotiques a été généralement utilisée : l'amoxicilline, l'ampicilline, la céfalotine, le chloramphénicol, l'érythromycine, la kanamycine, l'oxacilline, la pénicilline, la spiramycine, la streptomycine, les sulfamides, la tétracycline, et les triméthoprime-sulfamides [215].

### **IX.4 Méthodes d'analyses bioinformatiques**

Les séquences d'ADN ont été analysées à l'aide du programme VectorNTI (Invitrogen, Carlsland, CA, USA).

La séquence du génome d'*E. faecalis* V583 est accessible sur le site du TIGR (*The Institute for Genomic Research*, [www.tigr.org](http://www.tigr.org)).

Les comparaisons et les alignements des séquences peptidiques ont été réalisés grâce aux logiciels disponibles en ligne sur les sites du NCBI (National Center for Biotechnology Information ; [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) et de ExPASy (Expert Protein Analysis System ; [www.expasy.ch](http://www.expasy.ch)) [215].



*le bacille de koch  
( tubercuolse ) :*

## **X- LE BACILLE DE KOCH ( TUBERCULOSE ) :**

le bacille de koch fin bacille assez long (2 à 5  $\mu\text{m}$ ), légèrement incurvé, c'est une bactérie à Gram + , mais difficilement colorable par cette technique, sa coloration spécifique se fait par la méthode de Ziehl-Neelsen révélant son alcool-acido résistance propriété commune à toutes les mycobactéries dont l'agent principal de la tuberculose est le mycobactérium tuberculosis strictement humain [216].

### **X. 1 Résistances chez le *Mycobactérium tuberculosis* : la multi-résistance et l'ultra résistance :**

L'émergence de tuberculoses résistantes est un sujet de plus en plus préoccupant dont l'homme est en grande partie responsable ; soit par le biais d'une mauvaise observance du patient ou par le biais des prescriptions inadéquates du médecin traitant. Parmi les formes résistantes, on distingue classiquement les tuberculoses multi-résistantes (MDR) et ultra-résistantes (XDR).

Les premières correspondent à une résistance à l'isoniazide et la rifampicine. Les souches XDR sont résistantes à l'isoniazide, à la rifampicine, aux fluoroquinolones et à au moins un des trois antituberculeux injectables de deuxième ligne : capréomycine, amikacine ou kanamycine. Selon une estimation de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), 480 000 personnes ont développé une tuberculose MDR dans le monde en 2013, dont près de 9 % étaient XDR [217].

Il est essentiel également de distinguer les résistances primaires et secondaires. Dans la majorité des cas, les cliniciens sont confrontés à des résistances secondaires, c'est-à-dire que le tuberculeux développera une résistance acquise malgré la prise du traitement anti bacillaire du fait d'une mauvaise observance ou d'une prescription initiale inadéquate.

Alors que Les résistances primaires sont retrouvées chez des patients qui n'ont jamais été traités auparavant, après transmission interhumaine de bacilles résistants. Ces cas de résistances primaires mettent donc en évidence la nécessité absolue de respecter un isolement respiratoire initial strict et de mener des enquêtes correctes autour des cas index. En ce qui concerne l'isolement respiratoire, il est classique de respecter un isolement de 15 jours pour les formes sensibles et d'attendre la négativation des cultures pour les formes résistantes.

## **X.2 Etude in vitro de la résistance**

### **X.2.1 Tests phénotypiques :**

Les tests phénotypiques reposent sur l'étude du comportement de la bactérie en présence d'anti bacillaires .L'antibiogramme peut être réalisé sur milieu solide de Löwenstein-Jensen en 3 à 6 semaines ou sur milieu liquide MGIT en 10 jours. Sur milieu liquide, l'antibiogramme pourrait même être réalisé à partir de l'examen direct positif, permettant ainsi de diminuer le délai de son obtention [218,219]. il existe néanmoins une réserve importante en ce qui concerne la sensibilité au pyrazinamide : cet antibiotique n'est actif qu'à un pH très acide, peu favorable à la croissance de *M. tuberculosis*, ce qui conduit parfois le laboratoire à rendre une fausse résistance au pyrazinamide [220].

## X.2.2 Tests génotypiques

Les tests génotypiques reposent sur la mise en évidence de mutations sur les gènes qui confèrent la résistance à l'antibiotique. Les principaux gènes étudiés sont : *rpoB* pour la rifampicine, *katG* et *inhA* pour l'isoniazide, *embB* pour l'éthambutol, *gyrA* et *gyrB* pour les quinolones et *rrs* pour les aminosides de réserve [221].

### a) Line Probe Assay : test GenoType<sup>®</sup> MTBDR

Ces tests reposent sur l'amplification de fractions de gènes codant pour la cible des antituberculeux puis hybridation inverse avec sondes. Ils peuvent être réalisés à partir d'échantillons dont l'examen direct ou la culture sont positifs et permettent en quelques heures de détecter la résistance à la rifampicine et à l'isoniazide. La sensibilité de détection de la résistance à l'isoniazide (84 %) reste inférieure à celle de la rifampicine (de l'ordre de 98 %) [222,223]. L'apport du test MTBDR *plus* par rapport au test MTBDR standard est qu'il permet l'étude des mutations du gène *inhA* (Tableau XII) . Le dernier test commercialisé en 2009 est le test MTBDR*sl* qui permet, dans les pays à forte incidence de tuberculose XDR, de détecter la résistance aux fluoroquinolones, à l'éthambutol, à l'amikacine et à la capréomycine avec une sensibilité variant de 77 à 92 %. La résistance à l'éthambutol n'est détectée qu'avec une sensibilité d'environ 60 %, ne permettant donc pas de retenir ce test pour le dépistage de ces résistances [224].

**Tableau XII** Résumé des principales données des méta-analyses de Ling et al. [223] et Bwanga et al. [225].

Méta-analyse	Rifampicine		Isoniazide	
	Sensibilité	Spécificité	Sensibilité	Spécificité
<i>Ling et al.</i> MTDBR + MTDBR plus	98,1 % (95,9—99,1)	98,7 % (97,3—99,4)	84,3 % (76,6—89,8)	99,5 % (97,5—99,9)
<i>Bwanga et al.</i> MTDBR	99 % (92—100)	98 % (94—99)	71 % (62—79)	100 % (96—100)
MTDBR plus	99 % (96—100)	99 (98—100)	96 (93—98)	(99—100)

### b) Xpert<sup>®</sup> MTB/RIF

L’Xpert<sup>®</sup> MTB/RIF réalisé sur les expectorations permet de détecter une résistance à la rifampicine avec une sensibilité de 95 % et une spécificité de 98 % [226-228]. Cette résistance à la rifampicine est importante car elle est prédictive de multi résistance dans environ 90 % des cas.

### c) Tests moléculaires

Ces tests moléculaires sont particulièrement utiles chez les patients ayant une forte probabilité de tuberculose MDR car ils permettent de prendre des décisions rapides concernant les molécules à employer, en attendant les résultats de l’antibiogramme classique phénotypique. Ils présentent donc des avantages considérables mais doivent néanmoins être toujours associés à un antibiogramme par méthode phénotypique. Un inconvénient de ces tests moléculaires est qu’ils dépendent de la connaissance des mécanismes de résistance, du nombre et de la taille des gènes impliqués dans la résistance et de l’impact des mutations sur le phénotype de résistance. Par exemple, le test génotypique MTBDR *plus* détecte mal la mutation L533P sur le gène *rpoB*, et cette mutation ne se révèle pas toujours systématiquement sur un antibiogramme classique. Or, cette mutation a été corrélée à des échecs thérapeutiques [229].

## **X.3 L'approche thérapeutique**

### **X.3.1 La Bédaquiline**

Découverte par des chercheurs français, la bédaquiline (Sirturo<sup>®</sup>) est un nouvel antituberculeux qui agit en inhibant spécifiquement l'ATP (adénosine-5 - triphosphate) synthase myco bactérienne, une enzyme indispensable à l'approvisionnement énergétique de *M. tuberculosis*. Cet antituberculeux est indiqué chez l'adulte, en association avec d'autres médicaments antituberculeux, en cas de résistance ou d'intolérance à un autre schéma thérapeutique. Un succès thérapeutique a été montré dans plusieurs études, avec toutefois une attention particulière à porter sur l'allongement de l'intervalle QT sur l'électrocardiogramme [230,231]. En France, la bédaquiline fait l'objet d'autorisations temporaires d'utilisation (ATU) pour les cas de tuberculoses à bacilles MDR quand il n'y a pas d'autre possibilité thérapeutique [232]. Il existe néanmoins des cas décrits de résistance à la bédaquiline [233] qui rappellent qu'il faut utiliser cette molécule de façon raisonnée.

### **X.3.2 La collapsothérapie dans la tuberculose pulmonaire ultra-résistante :**

La prise en charge thérapeutique de la résistance du *Mycobacterium tuberculosis* est associée à un taux plus important d'échec thérapeutique, de traitement incomplet, de récurrence et de décès [234,235, 236]. Ainsi, récemment, le débat sur l'intérêt potentiel de la chirurgie associée au traitement médical a été relancé, notamment chez les patients sous traitement médical et à haut risque d'échec ou de rechute [237].

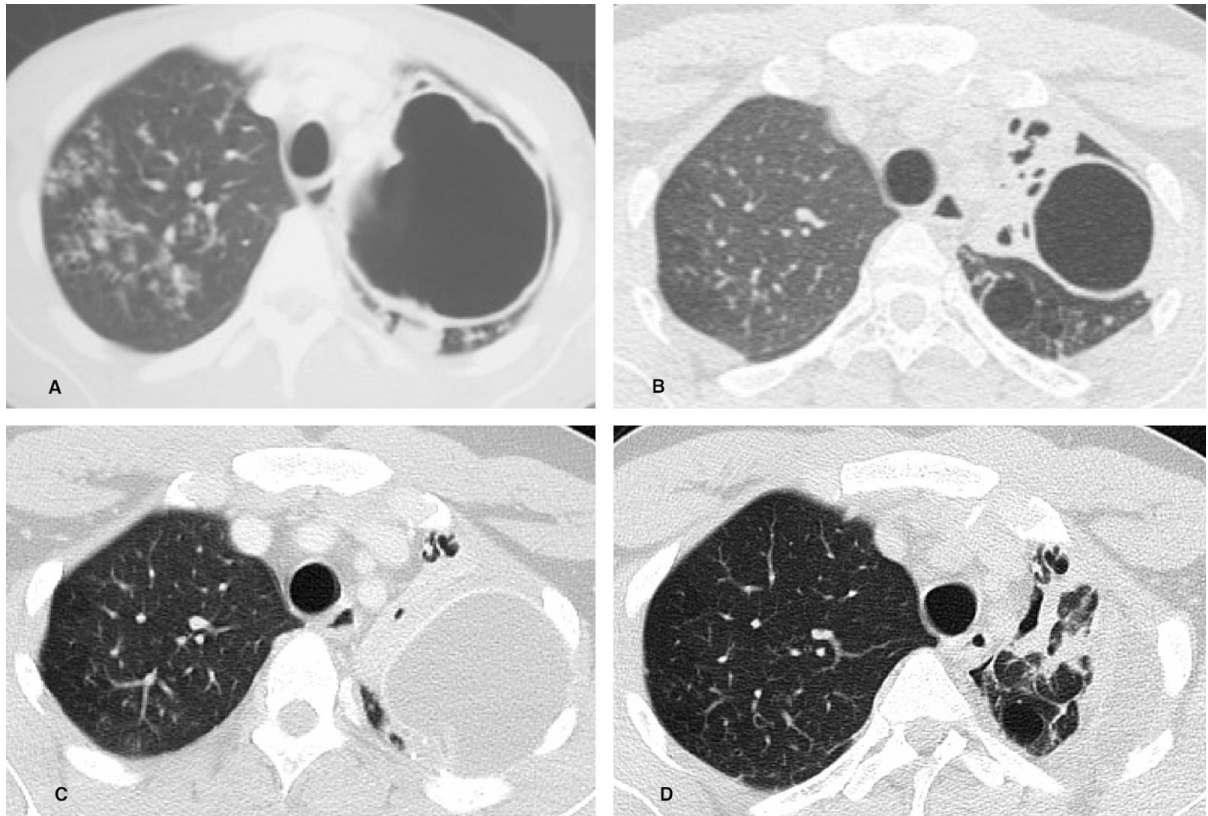
Habituellement réservée aux séquelles pleuro-parenchymateuses et à leurs complications, la chirurgie classique est à l'heure actuelle envisagée comme un traitement adjuvant possible au traitement médical des tuberculoses multi- et ultra-résistantes, afin d'améliorer le taux de succès clinique et microbiologique [237]. Cette approche thérapeutique permet d'obtenir un taux de guérison entre 72 et 98 % selon les séries. La mortalité est de 0 à 5 % [237]. Elle se base essentiellement sur l'exérèse des lésions, une pneumonectomie ou une lobectomie en fonction de l'extension des lésions et de la capacité pulmonaire. Malheureusement, la morbidité liée à cette chirurgie est élevée, elle varie de 5 à 35 %, même pour les équipes entraînées [237, 238, 239] et son efficacité semble moindre dans les tuberculoses ultra-résistantes (XDR). Cependant Le recours à l'acte chirurgical dans le traitement des tuberculoses multi-résistantes exige des critères particuliers :

- Un haut risque d'échec du traitement médical à base des anti-tuberculeux (aminoside ou fluoroquinolone)
- Des lésions localisées permettant une résection efficace
- l'activité des anti-tuberculeux est suffisante pour diminuer la charge bactérienne et faciliter la cicatrisation des sutures bronchiques après la résection.

La chirurgie est ainsi habituellement proposée après 3 mois de traitement, ou de préférence après l'obtention de culture négative. [237].

La collapsothérapie quant à elle , permet l'affaissement d'une ou plusieurs cavités où le *Mycobacterium tuberculosis* peut persister sous forme quiescente (Fig 42). Ce qui diminue ainsi le risque de récurrence plusieurs années après

traitement. Le fait de supprimer ces cavités évite également la surinfection bactérienne ou la colonisation de celles-ci par un *Aspergillus* provoquant un aspergillome . Cette technique est une alternative à la résection pulmonaire dans la chirurgie des tuberculoses multi-résistantes notamment lorsque celle-ci paraît contre-indiquée du fait de l'extension des lésions, de la fonction respiratoire ou de l'état général. Elle implique différentes techniques notamment : la thoracoplastie, la collapsothérapie extra-musculo-périostée effectuée grâce à des billes ou la mise en place d'une prothèse extra-pleurale, le pneumothorax thérapeutique [240,241].



**Figure 42** : Coupes tomodensitométriques thoraciques axiales en fenêtre parenchymateuse montrant l'aspect du lobe supérieur gauche avant traitement (A), la cavité résiduelle principale lobaire supérieure gauche après le traitement médical seul (B), la prothèse extrapleurale en place (C), et l'aspect du lobe supérieur gauche après retrait de la prothèse (D).

La thoraco-myo-plastie semble abandonnée du fait de la déformation thoracique et du retentissement engendré sur la fonction pulmonaire. Jouveshomme et al. [242] ont rapporté à la fin des années 1990, l'intérêt de la collapsothérapie extra-musculo-périostée effectuée grâce à des billes chez des patients en échec du traitement médical pour une tuberculose multi-résistante. Celle-ci permet alors la négativation définitive des prélèvements microbiologiques. Dans cette série, aucune complication locale n'a été rapportée, les billes étant retirées entre 3 et 25 mois après la chirurgie. Cependant, de nombreuses complications liées à la présence prolongée de ce type de matériel ont été signalées, tels les saignements par érosion de gros vaisseaux, les infections, la migration du matériel et les cancers secondaires [242]. Pour éviter ces complications, La technique a été actualisée, avec le remplacement des billes par la mise en place d'une prothèse souple extra-pleurale d'extension sous-cutanée [241] qui peut être enlevée 6 à 8 mois après sa mise en place.

Dans une autre étude de Hastraete E et al., et parmi 209 tuberculoses traitées médicalement, dont 78,9 % multi-résistantes, la négativation des cultures a été obtenue pour 100 % des tuberculoses nouvellement diagnostiquées et 81,1 % des tuberculoses retraitées dans le groupe pneumothorax thérapeutique versus respectivement 70,9 % et 40 % dans le groupe témoin [243].



*le bacille de koch  
( tubercuolse ) :*

## XI. RECOMMANDATIONS

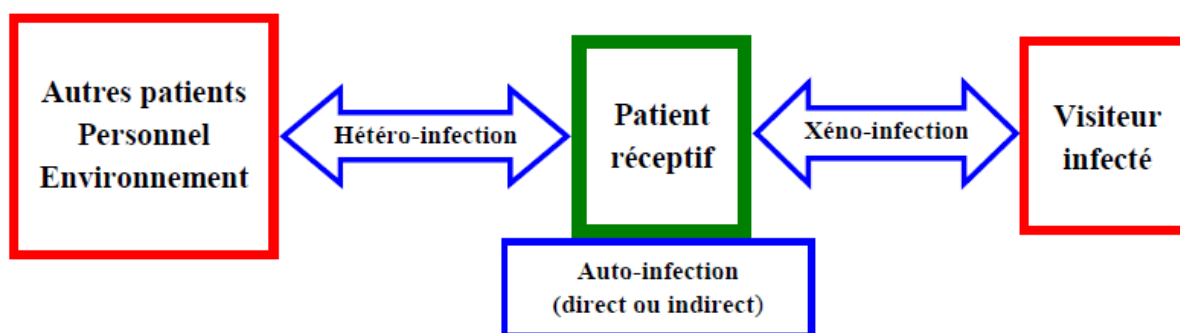
La prévention de l'émergence de la résistance et de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques représente un enjeu majeur de santé publique pour les établissements de soins. Il convient donc de mettre en oeuvre des stratégies de maîtrise de ces pathogènes.

La lutte contre les BMR s'articule autour de trois grands objectifs :

- maîtrise de la diffusion des BMR par transmission croisée ;
- prévention de l'émergence de BMR liée à l'utilisation trop large des antibiotiques ;
- information et formation.

### XI.1 Maîtrise de la diffusion des BMR

La limitation de la propagation dans et entre les établissements de soins mais aussi en milieu communautaire des BMR représente un défi à relever. Cependant pour bien maîtriser cette diffusion il est opportun de rappeler les moyens par lesquels ces bactéries diffusent-elles en milieu hospitalier (figure 43).



**Figure 43** : Moyens de transmissions des bactéries en milieu hospitalier

Cette figure établit clairement que l'Homme est au centre du phénomène comme :

- principal réservoir et source de bactéries ;
- principal transmetteur, notamment pendant les traitements ;
- principal récepteur pour les bactéries, ce qui fait de lui un nouveau réservoir.

Donc toute stratégie visant à maîtriser la diffusion des bactéries multirésistantes doit d'abord être centrée sur l'Homme et ensuite sur son environnement. Elle consisterait à mettre en oeuvre des précautions dites « standard », qui s'appliqueront au personnel soignant médical et paramédical, aux patients ainsi qu'à tout intervenant auprès des patients.

Tout d'abord il faut qu'il y ait suffisamment de personnel au niveau des hôpitaux afin d'éviter toute surcharge de travail. Une application de solutions hydro-alcooliques doit être faite avant et après chaque contact avec un malade afin d'éliminer la charge bactérienne au niveau des mains, les stéthoscopes doivent être essuyés avec les solutions hydro-alcooliques, l'usage des portables doit être limité et si nécessaire il faut prendre soins de les essuyer. Les lavabos doivent être adaptés afin que la manipulation puisse se faire avec les pieds et non avec les mains et du savon liquide dans un flacon y doit être également déposé en permanence. D'autres mesures doivent être si possible prises :

- établissement de protocoles d'hygiène et formation du personnel en matière d'hygiène hospitalière ;
- dépistage des bactéries multirésistantes.

### **XI.1.1 Etablissement de protocoles d'hygiène et formation du personnel en matière d'hygiène hospitalier**

Ce point doit être piloté par un comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) chargé de coordonner la surveillance, la prévention et la formation continue en matière de lutte contre les infections nosocomiales. Il sera composé de médecins, pharmaciens, biologistes/microbiologistes, infirmiers, administrateurs et autres professionnels de l'établissement. Ce comité pourra être assisté par une équipe opérationnelle d'hygiène hospitalière (EOHH), composée également de médecins, de pharmaciens, de spécialistes en hygiène, d'infirmiers, de biologistes/microbiologistes, d'administrateurs et autres professionnels de l'hôpital [65].

L'EOHH se chargera de mettre en place une politique d'hygiène hospitalière. Celle-ci sera axée sur cinq points :

- l'équipement des points d'eau ;
- la stérilisation et la désinfection correcte du matériel de travail ;
- l'hygiène des mains par utilisation des solutions hydro-alcooliques ;
- l'isolement septique et signalisation des patients porteurs de BMR ;
- la formation continue en hygiène hospitalière et évaluation des actions menées [63].

## **XI.1.2 Dépistage des bactéries multirésistantes**

Le dépistage doit être effectué (dans la mesure du possible) chez tous les patients avant leur admission et durant toute la durée de leur séjour dans l'hôpital. A défaut le dépistage dans les services qui présentent des risques importants d'émergence et/ou d'acquisition de bactéries multirésistantes doit être fait. Il aura pour principaux objectifs :

### **XI.1.2.1 Identification des porteurs**

On réalise des prélèvements nasaux, anaux, environnementaux et éventuellement au niveau de plaies des patients. Il permettra d'appliquer des précautions spécifiques d'isolement technique ou géographique. L'isolement technique comprend :

- lavage antiseptique des mains (polyvidone iodée ou chlorhexidine) après contact avec un patient porteur ou son environnement, puisque l'on sait que l'antisepsie des mains est la mesure la plus efficace pour prévenir la transmission manuportée des BMR ;
- traitement hygiénique des mains par friction (solutions hydro-alcooliques) ;
- signalisation des patients colonisés ou infectés (porte de la chambre ou dossiers du patient) ;
- port de tablier à usage unique en cas de contact rapproché avec les patients, de gants à usage unique lors de soins contaminants ainsi que l'individualisation du matériel finalisent l'isolement technique [66,67].

L'isolement géographique est réalisé dans la mesure du possible et selon les contraintes architecturales du service. Il consiste à isoler le patient porteur de BMR dans une chambre.

L'isolement technique ou géographique des patients ne sera levé qu'au retour négatif des résultats de dépistage [67].

#### **XI.1.2.2 Eradication du portage**

- *décontamination nasale* : l'élimination du portage nasal des SARM peut être obtenue avec un antibiotique systémique tel que la rifampicine ou avec un traitement local par la mupirocine. Elle doit être associée à une toilette antiseptique cutanée pour être efficace [68, 69].

- *décontamination digestive des EBLSE* : les données de la littérature concernant l'utilité de cette mesure sont très limitées. Le schéma adéquat doit être choisi sur la base du profil de résistance aux antibiotiques dans l'hôpital. L'élimination peut être complexe à cause de la multirésistance de ces germes. Les régimes antibiotiques utilisés ont inclus la ciprofloxacine, la colistine, la polymixine B et la néomycine. La décontamination digestive est envisageable comme mesure complémentaire à court terme pour la maîtrise d'épidémies. En revanche elle doit être évitée en situation endémique car elle peut faciliter la sélection de souches multirésistantes [25].

### **XI.1.2.3 Evaluation de la qualité de la prescription et du respect des mesures d'hygiène dans l'hôpital**

Puisque l'émergence et la diffusion des BMR sont liées à la prescription des antibiotiques et à l'application des mesures d'hygiène, il est logique d'en faire des indicateurs dans la lutte contre celles-ci. Cet indicateur présente de nombreux avantages car il est relativement peu coûteux et d'obtention facile. De plus il reflète la qualité des soins et le degré d'application ou non des mesures d'hygiène instaurées. L'évaluation de la politique de lutte contre les BMR peut aussi s'effectuer par réalisation d'études épidémiologiques périodiques et dont les résultats seront comparés aux précédents. Ainsi toute augmentation des bactéries multirésistantes pourrait dériver d'une antibiothérapie mal adaptée et/ou de déficiences en matière d'hygiène dans un service voire même dans l'hôpital.

## **XI.2 Prévention de l'émergence de BMR**

La prévalence élevée des bactéries multirésistantes ainsi que la gravité des infections qu'elles induisent amènent à prescrire largement les quelques molécules encore actives, souvent les plus récentes et/ou de spectre étendu. Ces pratiques favorisent l'émergence de nouvelles résistances. Il est donc essentiel de retarder l'apparition et/ou l'extension des résistances bactériennes et de préserver le plus longtemps possible l'activité des antibiotiques. D'où la nécessité d'un bon usage des antibiotiques. Quatre acteurs principaux se doivent de collaborer autour du bon usage des antibiotiques à l'hôpital : la commission des antibiotiques, le laboratoire de microbiologie, la pharmacie et les services cliniques [64].

### **XI.2.1 La commission des antibiotiques**

L'hôpital doit se doter d'une commission des antibiotiques (CA) dirigée par un référent en antibiothérapie. Elle se chargera d'impulser et de coordonner des actions en matière de bon usage des antibiotiques. Sa composition reposera sur des critères de compétence dans le domaine de l'antibiothérapie et de représentativité des spécialités fortement concernées par la prescription d'antibiotiques et/ou l'acquisition de résistances bactériennes. En plus des cliniciens concernés, en font partie des praticiens compétents en antibiothérapie et, notamment, des pharmaciens chargés de la dispensation des antibiotiques, des biologistes/microbiologistes. Le référent sera un praticien ayant une compétence reconnue attestée par une expérience clinique et éventuellement des publications scientifiques dans le domaine. La reconnaissance de la compétence de ce praticien, par l'ensemble des prescripteurs, serait un élément important de l'acceptabilité des conseils en matière d'antibiothérapie. Et lorsque son avis sera sollicité, le référent aura pour rôle d'aider les prescripteurs dans l'indication, le choix et la conduite de la meilleure antibiothérapie. Il devra, en collaboration avec le(s) pharmacien(s) et le(s) biologiste(s)/ microbiologiste(s) s'assurer de la promotion sur le terrain des actions de bon usage définies par la commission des antibiotiques et participer aux actions de formation (pour le personnel médical et paramédical) et d'évaluation. Il peut avoir un interlocuteur ou correspondant local en antibiothérapie dans chaque service afin de faciliter la mise en oeuvre des bonnes pratiques en antibiothérapie au sein des services.

## **XI.2.2 Le laboratoire de microbiologie**

Il intervient à plusieurs niveaux :

### **XI.2.2.1 Diagnostic de l'infection, initiation et suivi de l'antibiothérapie**

Le laboratoire de microbiologie définit avec les services concernés la nature et la qualité de tous les prélèvements microbiologiques nécessaires avant de mettre en place une antibiothérapie empirique. Tout effort d'organisation et de prise en charge technique des prélèvements permettant de réduire le délai entre leur réalisation et l'identification des bactéries et de leur sensibilité aux antibiotiques doit être favorisé, afin d'aider à réduire le délai entre le prélèvement et l'administration d'une antibiothérapie adéquate. Le résultat des antibiogrammes est rendu après lecture interprétative. Dans certains cas, la détermination des CMI des antibiotiques est une information qui peut être utile à la détermination des posologies afin d'obtenir des concentrations sériques satisfaisantes.

### **XI.2.2.2 Surveillance épidémiologique**

Des informations relatives à l'écologie locale (globale et par service) et aux résistances des principales espèces bactériennes aux principaux antibiotiques considérés comme des indicateurs pertinents doivent être régulièrement produites (au moins une fois par an).

### **XI.2.2.3 Système d'alerte**

Il est nécessaire de développer un système opérationnel d'alerte capable de prévenir les services cliniques en cas de profil de résistance particulier et de mettre en place les mesures nécessaires (isolement, adaptation de l'antibiothérapie). Le laboratoire de microbiologie doit mettre en place les moyens permettant de déceler précocement la survenue d'un phénomène épidémique et l'apparition de nouveaux phénotypes de résistance.

## **XI.2.3 La pharmacie hospitalière**

Elle intervient à différents niveaux

### **XI.2.3.1 Gestion, approvisionnement, détention**

Elle détient en permanence les antibiotiques définis comme indispensables, et s'approvisionne dans des délais compatibles avec la sécurité des patients. Elle veille à ce que la continuité des traitements soit assurée.

### **XI.2.3.2 Dispensation : rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre la résistance bactérienne**

- Les pharmaciens d'officine dans les stratégies de lutte contre la résistance bactérienne

Le pharmacien d'officine est un acteur majeur en termes de santé publique et il a incontestablement un rôle à jouer dans la lutte contre ces phénomènes de résistance. C'est même un devoir. Sa proximité avec les malades, son accessibilité et ses capacités à conseiller et à persuader font de lui un allié de choix. Le pharmacien au Maroc, comme ses collègues européens, doit avoir un rôle primordial pour limiter la propagation de la résistance [244].

- le bon usage des antibiotiques

Le pharmacien, en tant que spécialiste du médicament, se doit de s'assurer que les antibiotiques sont utilisés de façon appropriée. Il joue donc indiscutablement un rôle dans le juste usage des antibiotiques. Même s'il est compliqué, dans l'état actuel des choses, pour le pharmacien de juger du caractère opportun de la mise en place de l'antibiothérapie ou encore de la pertinence du choix de la molécule par rapport aux recommandations, il apparaît indispensable qu'il vérifie les doses et durées de traitement.

L'intervention des pharmaciens dans ce domaine inclut non seulement les meilleures pratiques de dispensation possibles mais également des informations sur l'importance de prendre l'antibiotique conformément à la prescription, tant en termes de régime posologique (par exemple, toutes les 12 heures) qu'en ce qui concerne la durée du traitement (par exemple, durant 7 jours). De plus, en surveillant et en informant les patients sur les éventuels effets secondaires, les effets indésirables et les interactions médicamenteuses, les pharmaciens contribuent à l'utilisation correcte des antibiotiques et identifient les causes éventuelles de la non-adhérence.

De plus, un traitement antibiotique efficace passe par une bonne observance du traitement par le patient. Là encore le pharmacien apparaît avoir un rôle fondamental à jouer.

Par ailleurs, les pharmaciens communautaires sont souvent le premier point de contact pour le public lorsqu'il présente des symptômes et ils jouent un rôle central en conseillant les patients sur les affections mineures et en les renvoyant, en cas de besoin, à leur médecin. Le rôle des pharmaciens dans la démystification de la nécessité de recourir aux antibiotiques pour traiter les refroidissements et autres affections mineures est un rôle important [245, 246].

- Prévention des infections et maîtrise des transmissions croisées

L'éducation pour la santé est une obligation pour le pharmacien. Il doit « contribuer à l'information et à l'éducation du public en matière sanitaire et sociale ».

L'hygiène des mains, le dépistage des patients colonisés, l'identification précoce des micro-organismes résistants, l'isolement des porteurs de BMR, la mise en place de barrières préventives telles que le port de masques ou de gants, sont autant de gestes qui permettent de réduire la transmission des micro-organismes résistants d'une personne à l'autre, de diminuer la résistance à grande échelle, de préserver l'efficacité des antibiotiques courants.

Le pharmacien a un rôle important à jouer dans l'information, la prévention et le dépistage des maladies. Depuis longtemps, il y contribue activement en :

- Participant aux campagnes de sensibilisation et d'information sur des sujets de santé publique ;
- Transmettant des informations sur les moyens de prévention, les maladies.
- Relayant les campagnes de dépistage des maladies ;
- Repérant les personnes à risque et les orientant vers une consultation médicale [245-247].
- Communication, éducation et formation

Le pharmacien détient un rôle majeur d'informateur et d'éducateur. Il doit pour cela s'informer et se former continuellement, et ainsi être au fait des nouveaux traitements, des dernières recommandations et de la législation en vigueur.

Les pharmaciens d'officine constituent une ressource importante d'informations et dans la promotion des campagnes de santé au niveau des pharmacies, la promotion dans les écoles et autres organisations communautaires peut s'avérer un autre moyen efficace de renforcer la sensibilisation à l'utilisation rationnelle et appropriée des médicaments, dont les antibiotiques [245, 246].

- Collaboration multidisciplinaire et coopération internationale

Chaque professionnel de santé a des connaissances et des compétences qui lui sont propres et qu'il met au service de la population. Quatre acteurs sont privilégiés dans la juste utilisation des antibiotiques :

- Le prescripteur, établit le diagnostic et a la responsabilité thérapeutique.
- Le microbiologiste, établit des diagnostics, oriente la thérapeutique, participe aux alertes et aux suivis épidémiologiques.
- Le pharmacien, analyse les prescriptions (qualité, conformité), dispense les thérapeutiques et fait un suivi.
- Enfin celui qui administre l'antibiotique, qu'il soit le patient lui-même, un aidant, le prescripteur du médicament, un infirmier ou encore l'éleveur, veille à la bonne observance.

L'ensemble de ces savoir-faire, mis en réseau, ont pour même objectif une meilleure prise en charge du patient. De plus, cette prise en charge optimale dans le cadre d'une antibiothérapie signifie non seulement le soin le plus favorable au patient mais également une meilleure protection de la population

toute entière. Ainsi l'échange entre professionnels de santé, apparaît comme essentiel dans une lutte globale contre l'antibio-résistance où chaque individu est concerné [245].

➤ Propositions d'évolution des missions du pharmacien d'officine dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques

- Réalisation des TDR des angines streptococciques en officine

La réalisation du TDR des angines streptococciques rentre dans la politique de réduction de la consommation d'antibiotique.

Afin d'accroître le taux d'utilisation de ce test, sa réalisation pourrait être confiée aux pharmaciens.

Ainsi lorsqu'un patient se plaint à l'officine de maux de gorge associés à des symptômes évocateurs d'une angine, le pharmacien pourrait proposer la réalisation du test. En cas de résultat positif, le patient serait orienté vers son médecin traitant avec le résultat du test. Si le test est négatif, le pharmacien informerait le patient qu'a priori son infection n'est pas bactérienne mais qu'il doit se rendre chez son médecin traitant si les symptômes persistent.

L'objectif essentiel poursuivi à travers cette procédure serait la réduction du nombre de prescriptions inutiles d'antibiotiques.

Au Maroc, ce test n'est que rarement utilisé. Il est de ce fait temps de voir comment on pourrait encourager son utilisation [245-248].

- Rencontres multidisciplinaires

L'organisation de « rencontres » entre pharmaciens et prescripteurs – en médecine humaine comme en médecine vétérinaire – pourrait être l'occasion d'échanges multidisciplinaires.

Dans les pratiques quotidiennes, les dialogues étant peu courants, ces rencontres peuvent être une opportunité de partage d'informations concernant des patients, des pathologies, des traitements, avec toujours le même objectif qui est le juste usage des antibiotiques, et du médicament en général, afin de préserver la santé de la population.

Le pharmacien pourrait, par exemple, transmettre aux différents prescripteurs de son secteur d'activité, les bonnes pratiques concernant l'antibiothérapie qui évolue au fil du temps [245].

#### **XI.2.3.3 Information**

La pharmacie doit fournir et actualiser la liste des antibiotiques disponibles, les recommandations de bonnes pratiques d'administration et les coûts de traitement journalier. Certaines de ces informations doivent être accessibles au prescripteur, notamment au moment du choix de l'antibiotique.

#### **XI.2.3.4 Evaluation**

La pharmacie a des missions d'évaluation (pharmaco-épidémiologique, pharmaco-économique, et de pharmacovigilance) et d'aide à la prescription. Dans ce cadre, la mise en oeuvre d'un système d'information permettant le suivi et l'analyse des consommations d'antibiotiques doit être un objectif prioritaire.

### **XI.2.4 Les services cliniques**

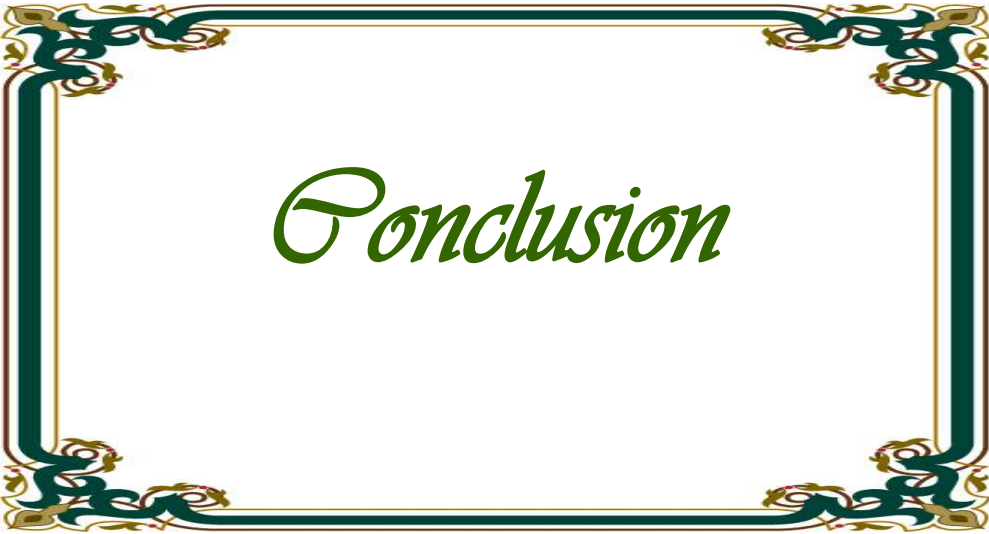
L'élaboration de recommandations adaptées aux situations cliniques les plus fréquentes ou induisant l'emploi d'antibiotiques à large spectre (en particulier, des produits les plus récents et qu'il convient de préserver) est nécessaire. Ces recommandations doivent être formulées sous forme de protocoles écrits. De tels protocoles sont indispensables surtout dans les services fortement utilisateurs d'antibiotiques, les unités de soins faisant appel à de nombreux prescripteurs, les services à risque élevé de résistance bactérienne. Tout échec d'une antibiothérapie doit faire l'objet d'une analyse. Il revient aussi aux cliniciens de sensibiliser les malades eux-mêmes ou leur entourage sur les conséquences négatives d'une utilisation non justifiée des antibiotiques.

### **XI.3 Information et formation**

Ce sont deux aspects essentiels pour lutter contre les BMR à l'hôpital. Les informations produites par le laboratoire de microbiologie, la pharmacie et les services cliniques doivent être connectées et exploitées par la commission des antibiotiques. Cela permet d'optimiser la prise en charge des patients infectés, de surveiller l'incidence de la résistance et d'en analyser les éventuels facteurs favorisants et les conséquences. Les programmes de formation initiale et continue des professionnels de santé doivent :

- être axée sur l'épidémiologie, la surveillance et les moyens de la maîtrise de la résistance mais aussi de la dissémination des bactéries ;
- assurer une information sur l'épidémiologie locale et la politique antibiotique de l'hôpital à chaque professionnel de santé présent dans l'hôpital (particulièrement à son arrivée).

Au niveau extrahospitalier la population doit être sensibilisée sur le non-intérêt de l'utilisation abusive et/ou inappropriée des antibiotiques. De même les pharmaciens d'officine doivent être conscients de la nécessité de respecter de la réglementation sur la dispensation des antibiotiques.



*Conclusion*

## **XII. CONCLUSION**

La prévalence des bactéries multirésistantes au niveau des Hôpitaux au maroc est «alarmante».

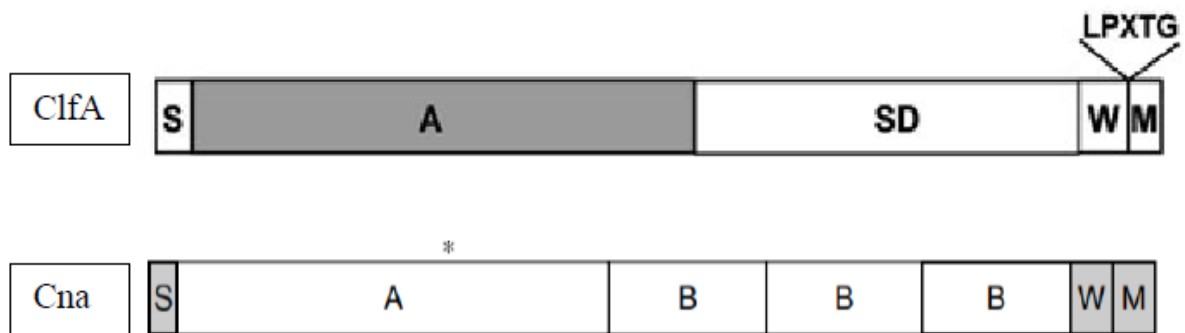
Bien qu'il soit urgent de renouveler l'arsenal thérapeutique, nous devons être conscients que l'âge d'or de l'antibiothérapie est bel et bien terminé. Aujourd'hui plus que jamais, la maîtrise de l'émergence et de la dissémination des BMR passe en premier lieu par l'adoption d'une politique cohérente d'hygiène particulièrement dans les services à forte prévalence de BMR, l'éducation de l'ensemble du personnel hospitalier en matière d'hygiène, le respect des procédures de lavage des mains, de stérilisation et de désinfection du matériel de travail ensuite par l'usage rationnel des antibiotiques afin de préserver les quelques molécules encore actives qui constituent les ultimes recours thérapeutiques et enfin par l'évaluation de la totalité des actions menées dans l'objectif de pouvoir améliorer la politique de lutte adoptée.

Pour finir, je citerai Louis Pasteur : « Au lieu de chercher à tuer les microbes, mieux vaut ne pas les introduire dans notre organisme ». Encore une fois de plus comprenons par là que prévenir vaut mieux que guérir.



## ANNEXE 1 : CLUMPING FACTOR

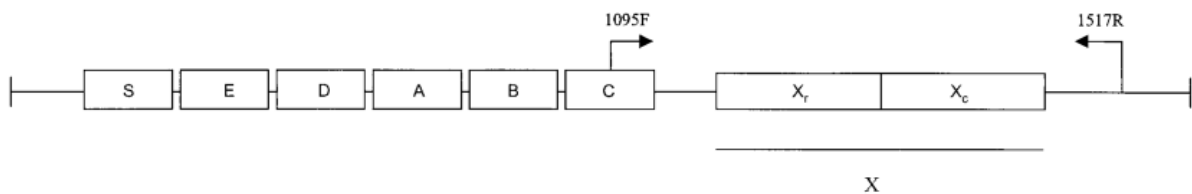
Les adhésines de *Staphylocoque aureus* les mieux caractérisées sont les protéines de liaison à la fibronectine, FnBPA et FnBPB, la protéine de liaison au collagène Cna, les protéines de liaison au fibrinogène (Clumping factor) ClfA et ClfB, et la protéine A (SpA pour staphylococcal protein A) (Foster et Hööcker, 1998; Corrigan et al., 2009; Burke et al., 2010) [249]. Les MSCRAMMs (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) ont une structure commune incluant une séquence signal à leur extrémité N-terminale, un domaine contenant le site de liaison au ligand, un domaine exposé contenant des séquences répétitives, et un domaine C-terminal contenant le motif consensus LPXTG (Leu-Pro-X-Thr-Gly) responsable de la liaison covalente au peptidoglycane de la paroi bactérienne. La figure 35 illustre les structures de ClfA et de Cna. Le motif LPXTG est reconnu par une famille d'enzymes, les sortases, qui vont lier de façon covalente l'adhésine au peptidoglycane de la paroi bactérienne (Marraffini et al., 2006; Schneewind et Missiakas, 2012)(Fig 44) [249].



S: peptide signal, A: domaine de fixation du ligand, B: séquences répétitives, SD: répétition du dipeptide sérine-aspartate ou région R, W: région pariétale, M: région membranaire, LPXTG: motif consensus (Foster et Höök, 1998; Heilmann, 2011).

**Figure 44:** Structure de la protéine de liaison au fibrinogène (ClfA) et de la protéine de liaison au collagène (Cna) de *Staphylocoque aureus* [249]

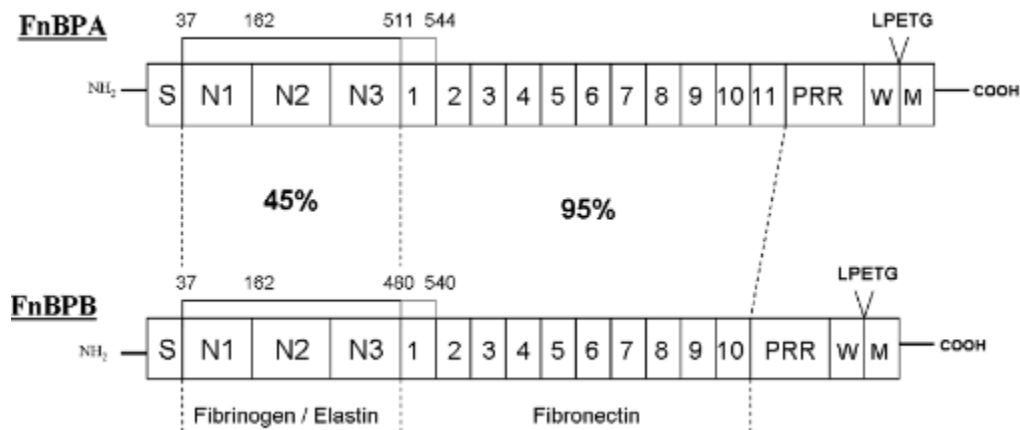
La protéine A (42 kDa) de *Staphylocoque aureus* contient à son extrémité N-terminale 5 domaines conservés (E, D, A, B et C) de liaison aux immunoglobulines. La partie C-terminale de cette protéine, aussi appelée région X, est dépourvue de toute capacité de liaison aux immunoglobulines. Par contre, elle permet la fixation de la protéine A au peptidoglycane de la paroi bactérienne (Löfdal et al., 1982; Shopsin et al., 1999). La région codant pour X est divisée en deux sous-régions: une région polymorphe X<sub>r</sub> contenant des courtes séquences répétitives (1 à 22) de 24 paires de base et une région constante X<sub>c</sub> n'ayant aucune séquence répétitive (Uhlén et al.; 1984; Garofalo et al.; 2012) (Fig 45). La variation de séquence de la région codant pour X<sub>r</sub> est générée soit par une délétion, une duplication, soit par des points de mutations et, est actuellement utilisée comme un outil épidémiologique pour le typage moléculaire de *Staphylocoque aureus* (Shopsin et al., 1999, Hallin et al., 2007) [249].



S: peptide signal, [A-D]: sites de fixation des immunoglobulines, [E]: région homologue à A-D; [X]: extrémité COOH-terminale, [X<sub>r</sub>]: région contenant des courtes séquences répétitives, [X<sub>c</sub>]: séquence d'attachement à la paroi (Shopsin et al; 1999).

**Figure 45:** Diagramme du gène spa avec chaque boîte illustrant les domaines de la protéine codés par les différents segments du gène ainsi que la localisation des amorces sens et antisens [249].

Mongodin et al. (2002) et Nashev et al. (2004) ont montré que les protéines de liaison à la fibronectine (Fig 46) étaient impliquées dans l'adhésion de *Staphylocoque aureus* à l'épithélium respiratoire et à l'épithélium nasal chez l'homme. Deux gènes distincts, *fnbA* et *fnbB*, codent pour ces deux protéines.



**Figure 46:** Structure des protéines de liaison à la fibronectine de *Staphylocoque aureus* [249]

Les deux protéines FnBPs présentent des régions hautement conservées, particulièrement dans la séquence de liaison à la fibronectine. Les pourcentages d'homologie sont indiqués entre les régions délimitées par des lignes verticales. Les parties N-terminales de FnBPA et FnBPB contiennent un peptide signal S, un domaine A de fixation du fibrinogène et de l'élastine et subdivisé en trois sous-domaines N1, N2 et N3. Les domaines A suivants contiennent des motifs de liaison à la fibronectine répétés en tandem. Ils contiennent un site unique de fixation de la fibronectine. Les domaines A de FnBPA et FnBPB contiennent respectivement 37-511 résidus et 37-480 résidus. PRR: répétitions riches en proline, W: région pariétale, M: région membranaire, LPETG: motif consensus (Burke et al., 2010) [249].

D'autres protéines de surface de *Staphylocoque aureus* ont été récemment identifiées et partagent les propriétés de tous les MSCRAMMs. Il s'agit de la protéine de surface de *Staphylocoque aureus* G (SasG) impliquée dans l'adhérence de *Staphylocoque aureus* à l'épithélium nasal (Roche et al., 2003) et de la protéine de surface SasC impliquée dans l'adhésion intercellulaire (Schroeder et al., 2009) [249].

## ANNEXE 2 : Galerie API 20NE

### Mode opératoire

#### ➤ Test oxydase

Le test oxydase doit être réalisé selon les instructions du fabricant, il constitue le 21<sup>ème</sup> test d'identification à noter sur la fiche de résultats.

#### ➤ Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

#### ➤ Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2ml)
- A l'aide d'une pipette ou d'une PSIpette, prélever 1 à 4 colonies de morphologie identique, par aspirations ou par touches successives.
- Réaliser une suspension d'opacité égale à 0,5 de McFarland. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

➤ **Inoculation de la galerie**

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO<sub>3</sub> à PNPG avec la suspension précédente en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement
- Ouvrir une ampoule d'API AUX Medium et y transférer environ 200µl de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir tubes et cupules des tests en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés GLU, ADH, URE pour former un ménisque convexe
- Refermer la boîte d'incubation et incubé à 29°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture de la galerie**

- après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture.
- noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées (GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG).
- la révélation des deux tests NO<sub>3</sub> et TRP doit se faire en mettant les tests d'assimilation à l'abri d'une contamination par l'air ; pour cela, placer le couvercle de la boîte d'incubation au dessus de ces tests, pendant la période de révélation des tests NO<sub>3</sub> et TRP.

- Test  $\text{NO}_3$  :
  - Ajouter une goutte de réactifs NIT 1 et NIT 2 dans la cupule  $\text{NO}_3$  .
  - Après 5 mn, une couleur rouge indique une réaction positive, à noter sur la fiche de résultats.
  - Une réaction négative peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) ; ajouter 2-3 mg de réactif Zn dans la cupule  $\text{NO}_3$  .
  - Après 5 mn, une cupule restée incolore indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule devient rose-rouge, la réaction est négative car les nitrates encore présents dans le tube ont alors été réduits en nitrites par le zinc.

La réaction utilisée pour l'identification de la bactérie est la réduction des nitrates ; elle est positive si l'une ou l'autre des deux réaction précédentes (production de  $\text{NO}_2$  ou de  $\text{N}_2$ ) est positive.

- Test TRP :

Ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive.

- Test d'assimilation :

Observer la pousse bactérienne. Une cupule trouble indique une réaction positive.

Des pousses d'intensité intermédiaire peuvent être observées et notées.

## ➤ **Interprétation**

**L'identification est obtenue à partir du profil numérique.**

- Détermination du profil numérique :

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21<sup>o</sup> test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

- Identification :

Elle est réalisée à partir de la base de données (V7.0)

A l'aide du catalogue analytique : rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

A l'aide du logiciel d'identification apiweb <sup>TM</sup> : entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

## **ANNEXE 3 : IDENTIFICATION DES GENES DE RESISTANCE PAR PCR SIMPLE**

### **1) Extraction de l'ADN bactérien**

L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée, sur un Automate EZ1 à l'aide du kit Qiagen : 51304 Qiamp DNA mini kit (Qiagen®, Hilden, Allemagne) selon les conditions spécifiées par les fournisseurs [80].

#### **➤ Préparation du mix**

La manipulation du mix se fait dans une pièce spéciale sous PSM avec le port de gants pour éviter toute contamination du Mix qui sera par la suite distribué dans des tubes Eppendorf numérotés

Chaque constituant de ce mix est multiplié par le nombre d'échantillons étudiés, puis 20µl de ce mélange sont distribués dans chaque tube Eppendorf PCR stériles :

- **Témoin négatif** : 5µl d'eau distillé stérile plus 20µl de mix
- **Témoin positif** : 5µl de DNA positif pour 20µl du mix.
- **Echantillons** : 5µl de DNA de notre échantillon est ajouté à 20µl de mix
- **Volume total** : 25µl par échantillon (les témoins ou les échantillons à analyser).

Le mix et les DNA sont transférés dans des tubes Eppendorf de type « Mastercycler personal » et sont introduits dans le thermocycleur [80].

### ➤ **Programmation du thermocycleur**

Cette réaction est cyclique, et elle se fait en trois étapes :

- **Dénaturation** : consiste à chauffer avec une température élevée pour séparer l'ADN à double brin en brisant les liaisons hydrogènes.

- **Hybridation** : une fois l'ADN séparé, on refroidit rapidement pour que les amorces se fixent à chaque extrémité complémentaire de l'ADN à simple brin.

- **La polymérisation ou élongation** : Après la fixation des amorces, l'ajout de la Taq polymérase et de nucléotide permet la synthèse des nouveaux brins d'ADN.

- Nouvelle amplification.

Les réactions d'amplification sont réalisées dans un thermocycleur (Labnet International MultiGene OptiMax Thermal Cycler) selon les conditions suivantes : 15 min à 95°C puis 35 cycles (94°C – 1min, 55°C – 50 sec, 72°C – 1min) et une élongation finale de 7 min à 72°C [80].

## **2) Lecture des résultats de PCRs**

### ➤ **Préparation du gel d'Agarose**

Pour un gel 1%, 4 g d'agarose est versé dans une bouteille à couvercle bleu où sont ajoutés 400 ml de TBE 0,5X (Tris-Borate-EDTA). Ensuite le tout est mis à chauffer dans un four à Micro-onde pendant 10 minutes jusqu'à ce que le liquide devienne limpide. Ainsi, le gel peut être stocké à température ambiante.

Verser dans un verre gradué utilisé pour le coulage du gel 50 ml d'agarose à 1% plus 200µl de BET (Bromure d'éthidium) qui va se fixer sur l'ADN (cette molécule s'intercale entre les bases de la molécule d'ADN) et va permettre la visualisation des bandes d'ADN dans le gel sur la table UV du transilluminateur [80].

- Couler le gel dans un moule puis déposer un peigne dans le gel afin de réaliser les puits et laisser refroidir à température ambiante pendant 30 minutes puis retirer le peigne.
- Placer le moule avec le gel dans la cuve d'électrophorèse en ajoutant un volume de tampon TBE 0.5X dans la cuve préalablement remplie jusqu'à ce que le gel soit immergé (environ 1mm au-dessus).
- Déposer dans le premier et dernier puit le marqueur de PM (**poids moléculaire TrackIt™ 100 bp DNA Ladder**) d'une concentration de 0.25µg/µl.
- Prendre un morceau de Parafilm sur lequel est mélangé 7µl de chaque échantillon avec 3µl de tampon de charge (Bleu de Bromo-phénol) qui assure le maintien du dépôt en immersion dans le puit et permet la visualisation de la migration.
- Les deuxième et troisième puits sont réservés au témoin positif et au témoin négatif.
- Déposer les échantillons dans les autres puits.
- Fermer la cuve et brancher l'alimentation de la cuve à de manière à ce que les dépôts soient côté cathode (-) [80].

- Appliquer une tension de 130 Volte correspondant à environ 30 minutes de migration.
- Couper l'alimentation quand le colorant a parcouru la distance requise ou laisser la migration arriver jusqu'à 1 cm du bord de la cuve (cette ligne est appelée le front de migration).
- Débrancher le générateur de la cuve [80].

➤ **Lecture (Visualisation par Transilluminateur)**

La visualisation des bandes d'ADN du gel se fait sur la table UV du transilluminateur dans une chambre noire. En fonction de la taille des fragments d'ADN étudiés, on repèrera la bande et sa taille respectivement par rapport au témoin positif et au marqueur de PM (TrackIt™ 100 bp DNA Ladder) [80].

➤ **Purification des produits de PCR**

- Ajouter aux produits de PCR (20µl), 180µl d'eau ultra-pure puis mettre les 200µl sur la plaque de purification sur membrane de silice.
- Mettre sur pompe à vide (aspiration liquide-ADN sur membrane) 20 min.
- Ajouter 50µl d'eau ultra-pure.
- Agiter sur une plaque agitatrice pendant 20min.
- Transférer l'ADN purifié dans une plaque ou barrettes et conserver à -20°C [80].

### ➤ **Séquençage**

Le séquençage des échantillons positifs, dans les deux directions, a été fait en utilisant l'ABI Prism® BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA) selon les indications du fournisseur [80].

### ➤ **Préparation de la réaction du séquençage**

La manipulation du mix pour la réaction du séquençage se fait comme une PCR standard dans une cuvette contenant de la glace pilée. Il est distribué dans des tubes Eppendorf numérotés à raison de 2 cupules pour chaque échantillon à chaque primer.

### ➤ **Purification au Sephadex®**

Préparation d'une plaque de filtration 96 puits de marque millipore A1=Cup1

- Remplir les puits de la plaque avec la poudre Sephadex à l'aide d'un moule spécial
- Ajouter 300µl d'eau ultra-pure dans chaque puit. La plaque Sephadex sera prête après 3h.
- Centrifuger à 1200g/2minutes 4°C en mettant une plaque collective (poubelle) au-dessous de notre plaque de purification pour récupérer les 300µl d'eau. Le Sephadex forme un gel pour la purification des produits de PCR.

- Ajouter 10µl de l'eau distillée dans chaque cupule contenant l'ADN (produits du BigDye), prendre une plaque de récupération propre en respectant l'ajustement des lettres et numéros avec la plaque Sephadex.
- Transférer les 20µl dans la plaque du Sephadex et faire une deuxième centrifugation 1200g/2minutes 4°C[80].

Récupérer de l'ADN purifié au Sephadex dans la plaque de récupération qu'on recouvre avec Septa (Caoutchouc perforé) et la déposer sur une autre plaque appropriée au séquenceur.

#### ➤ **Lecture des résultats**

Le séquençage d'ADN a été réalisé à l'aide de l'appareil ABI 3730 automated sequencer (Applied Biosystems, Foster City, California, United States). Les résultats obtenus ont été analysés grâce au logiciel CodonCode Aligner 3.7.1.1 sequencing analysis software.

Les séquences obtenues ont été analysées à l'aide de BlastN dans la base de données NCBI pour la caractérisation [80].

## ANNEXE 4 : LE CHEMOSTAT : LE DISPOSITIF BIOLOGIQUE

Un chemostat est un appareil de laboratoire (de type bioréacteur) dans lequel poussent, de façon contrôlée, des organismes (bactéries, phytoplancton).

On peut schématiser un chemostat de la façon suivante(Fig 45):

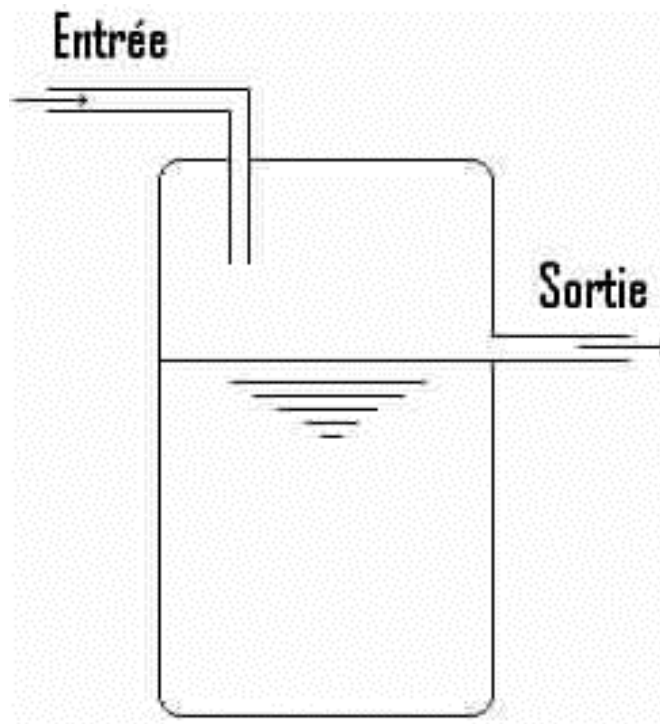


Figure 47 : schéma simplifié d'un chemostat

On place dans la chambre du chemostat les organismes dont on veut étudier la croissance. Ces organismes sont "nourris" par l'entrée dans le système de nutriment, à un taux  $D$  et une concentration  $s_{in}$ .

Trois modes de fonctionnement:

- en "batch". Ici, l'entrée et la sortie sont nulles. On assiste à une croissance exponentielle des organismes.
- en "fed batch". Seule la sortie est nulle. C'est le mode de fonctionnement préféré lorsque l'objectif est le contrôle de la population.
- en continu. Le débit de la sortie est égal au débit de l'entrée. Le volume est donc constant dans la chambre.

Dans le cas du chemostat, c'est le troisième type de fonctionnement (en continu) qui est privilégié. Ainsi, le mélange phytoplancton-nutriment est chassé du chemostat au même taux  $D$  que l'entrée.

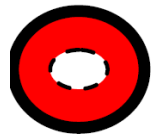
## **ANNEXE 5 : EXPERIENCE DE GRIFFITH, AVERY, MAC LEOD**

En 1928, un microbiologiste anglais, Fred Griffith, qui recherchait un vaccin contre la pneumonie, démontra que des pneumocoques tués par la chaleur pouvaient transmettre certains de leurs caractères, notamment leur virulence, à des souches de pneumocoques vivants non virulents. Cette découverte était tellement incroyable à l'époque que Griffith attendit quatre ans avant de publier ses résultats. Seul le transfert d'une substance chimique entre des bactéries mortes et des bactéries vivantes pouvait expliquer cette transformation. Ce fut

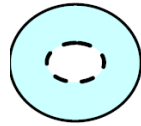
Oswald Avery qui, en 1944, réussit à démontrer que la substance responsable de cette transformation est l'ADN. Tous les biologistes étaient alors convaincus que la transmission des caractères héréditaires d'une génération à l'autre dépendait des protéines. Aussi, les résultats d'Avery représentaient-ils une véritable révolution conceptuelle et ils suscitèrent une vague de travaux sans équivalent dans l'histoire de la biologie.

Le matériel utilisé par Griffith est le pneumocoque, bactérie qui est responsable de la pneumonie chez les Mammifères. Le pneumocoque existe sous deux formes :

- Une forme virulente, ou pathogène, dite S, avec capsule, qui est résistante à l'élimination par les différentes cellules du système immunitaire ;
- Une forme dite R, non virulente parce que dépourvue de capsule, facilement éliminée par les cellules immunitaires[92].



Pneumocoques S : possédant une capsule épaisse et formant des colonies lisses (Smooth)



Pneumocoques R : dépourvus de capsule et formant des colonies rugueuses (Rough)

N°	Expériences	Etat de la souris	Analyse du sang de la souris
1	<p>Pneumocoques S vivants</p> <p>pneumocoques S vivants</p>	<p>Mort</p>	<p>Présence de très nombreux pneumocoques S vivants</p>
2	<p>Pneumocoques R vivants</p> <p>Pneumocoques R vivants</p>	<p>Survie</p>	<p>Absence de tout pneumocoque</p>
3	<p>capsule détruite</p> <p>Pneumocoques S tués</p> <p>Pneumocoques S tués</p>	<p>Survie</p>	<p>Absence de tout pneumocoque</p>
4	<p>Pneumocoques S tués + Pneumocoques R vivants</p> <p>Pneumocoques S tués + Pneumocoques R vivants</p>	<p>Mort</p>	<p>Présence de très nombreux pneumocoques S vivants</p>
5	<p>Pneumocoques S tués et sans ADN + Pneumocoques R vivants</p> <p>Pneumocoques S tués et sans ADN + Pneumocoques R vivants</p>	<p>Survie</p>	<p>Absence de tout pneumocoque</p>
6	<p>Pneumocoques R vivants + ADN extrait de Pneumocoques S</p> <p>Pneumocoques R vivants + ADN extrait de Pneumocoques S</p>	<p>Mort</p>	<p>Présence de très nombreux pneumocoques S vivants</p>

Figure 48 : Expérience de Griffith, Avery, MacLeod

## ANNEXE 6 : TEST IMMUNOCHROMATOGRAPHIQUE

### NOW S. PNEUMONIAE® BINAX

Des anticorps de lapin anti-*S. pneumoniae* sont adsorbés sur une membrane de nitrocellulose sous forme d'une ligne échantillon. Des anticorps de contrôle sont adsorbés sur la même membrane sous forme d'une ligne de contrôle. Les anticorps de lapin anti-*S. pneumoniae* et anti-espèces sont conjugués à un marqueur sèche sur un support fibreux inerte.

Les anticorps conjugués et la membrane forment la bandelette réactive. Cette bandelette réactive et un puits prévu pour contenir l'écouvillon

Pour effectuer le test, on trempe un écouvillon dans l'échantillon (urine ou LCR), on le retire, puis on l'insère dans la carte-test.

Le Réactif A (solution tampon) est ajouté à l'aide d'un flacon compte-gouttes. La carte-test est ensuite fermée, mettant en contact l'échantillon et la bandelette réactive. L'antigène pneumococcique présent dans l'échantillon va se lier avec l'anticorps anti-*S pneumoniae* conjugué.

Le complexe ainsi formé est capturé par l'anticorps anti-*S pneumoniae* immobilisé, formant la ligne échantillon. L'excès d'anticorps de lapin marqués se fixe au niveau des anticorps de contrôle immobilisés pour former la ligne de contrôle. Le test s'interprète par la présence ou l'absence de lignes colorées visibles, allant du rose au pourpre. Un résultat de test positif s'obtient visuellement en 15 minutes ou moins suivant la concentration d'antigènes présents dans l'échantillon et se caractérise par l'apparition de deux lignes colorées, une ligne échantillon et une ligne témoin. Un résultat négatif s'obtient au bout de 15 minutes, caractérise par l'apparition de la seule ligne de contrôle, indique que l'antigène de *Streptocoque pneumoniae* n'a pas été détecté dans l'échantillon.

L'essai n'est pas valide si la ligne de contrôle n'apparaît pas, même si la ligne échantillon est visible [250].

## ANNEXE 7 : PRÉSENTATION ET IMPORTANCE DU NIVEAU DE RÉSISTANCE AUX AMINOSIDES

L'Enterococcus possèdent une résistance naturelle aux aminosides (on parle de bas niveau de résistance). Cette résistance est liée à un défaut de pénétration car les aminosides pénètrent par la chaîne respiratoire ou en lien avec elle. Toutes les bactéries ne possédant pas de chaîne respiratoire sont naturellement résistantes

Toutefois l'utilisation d'une association de  $\beta$ -lactamines et d'aminoside rend la pénétration des aminosides possible. Ce traitement sera efficace si la bactérie n'a pas acquis une résistance supplémentaire comme la modification de la cible (les ribosomes) ou la synthèse d'enzymes qui inactivent les aminosides. L'antibiogramme doit permettre de mettre en évidence l'acquisition d'une résistance supplémentaire. On utilise des disques d'aminoside forte charge. L'aminoside est à une telle concentration qu'il peut pénétrer dans la bactérie par un transport passif (sans utiliser la chaîne respiratoire).

On pourra ainsi distinguer 2 niveaux de résistance [252] :

❖ Un bas niveau de résistance aux aminosides : la souche est sensible à l'aminoside forte charge, elle a uniquement la résistance naturelle. La bactérie reste résistante aux aminosides seuls mais on pourra traiter par une association  $\beta$ -lactamines et aminoside.

❖ Un haut niveau de résistance aux aminosides : la souche est résistante à l'aminoside forte charge. Acquisition d'une mutation (modification de la cible ou inactivation par enzyme) on ne peut pas utiliser une association  $\beta$ -lactamines / aminosides [252].



## RESUME

**Titre** : Bactéries Multi Résistante : Evolution dans le temps et dans l'espace.

**Auteur** : BALOUKI MAROUANE

**Directeur**: Pr ELHAMZAOUI SAKINA

**Mots clés** : BMR , SARM , BLSE , Carbapénémase , Infections Nosocomiales.

Les bactéries multi résistantes (BMR), de par la variété et la gravité des infections qu'elles provoquent posent un problème de santé à l'échelle mondiale.

En dehors de la réduction de l'arsenal thérapeutique actuellement disponible, elles entraînent une augmentation de la morbidité, de la mortalité et des coûts d'hospitalisation.

Parmi toutes les BMR, *les staphylococcus aureus* résistent à la pénicilline et les *entérobactéries* productrices de B-lactamases à spectre étendu sont les plus préoccupants compte tenu de leur pouvoir pathogène, de leur diffusion au sein des hôpitaux et de leur potentiel de diffusion dans la communauté. de plus, certaines BMR (*SARM, E. coli et K.pneumoniae BLSE* ) peuvent coloniser longtemps le patient après sa sortie de l'hôpital, ce qui peut contribuer à leur dissémination au sein de la population générale. La diffusion des EBLSE est d'une part plus facile que celle des *SARM* car elle s'effectue à partir d'un réservoir ( le tube digestif) beaucoup plus important que celui des *SARM* (peau et rhinopharynx).elles intéressent d'autre part tant les souches elles-mêmes que leurs gènes de résistance, inclus dans les éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons...) facilement transférables entre bactéries, ce qui n'est pas le cas des *SARM*.

L'objectif de ce travail était de mieux comprendre cette résistance aux antibiotiques et aussi les méthodes utilisées pour faire face à ce phénomène.

## SUMMARY

**Title :** Multiple drug resistant bacteria : Evolution in time and space

**Writer :** BALOUKI Marouane

**Director :** Pr ELHAMZAOUI Sakina

**Key words :** *MDRB* , *MRSA* , *ESBL* , *Carbapenemases*, Nosocomial infection

Multiple drug resistant bacteria (MDRB), are the roots of many health problems worldwid due to their various forms and the serious infections they cause.

As a consequence of the lack of the therapeutic armamentarium that exist nowadays, they lead to higher morbidity, mortality and increase the cost of hospitalization .

Among the MDRB ,*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* and *Enterobacteria that produce beta-lactamases* with extended spectrum rise concerns owing to their virulence and pathogenicity , their spreading in the hospitals and their potential outreach to the whole community.

Over and above, some *MDRB* ( *MRSA*, *E.coli*, and *K. pneumoniae ESBL* ) can colonize the patient even after his discharge from hospitals for a long time which jeopardise the population. The expansion of *ESBL* is easier than *MRSA* because it spreads via the digestive tube which is considered as a container, way more important than *MRSA* diffusion (skin and nasopharynx). Moreover this concerns also the strains and gene resistance including moving genetic elements such as plasmid and transposable element as a result of their transference between bacteria , it's not the case for *MRSA* .

The aim of this study was to understand better this resistance of antibiotics and the methods used to fight against this phenomenon.

## ملخص:

العنوان: البكتيريات المتعددات المقاومة : تطورها في المكان و عبر الزمان

الكاتب: مروان بلوقي

الاستاذة: سكيبة الحمزاوي

الكلمات المفاتيح: ب.م.م، العنقودية الذهبية المقاومة للمتسيلين، الانتروباكتيريا المنتجة للكرباينيماز، الانتروباكتيريا المنتجة للبيطا لاكطماز

تعتبر البكتيريات المتعددات المقاومة (ب.م.م)، مشكلة صحية في جميع أنحاء العالم وذلك لتسببها في إصابات متنوعة و حادة فضلا عن النقص الحاد في الترسانة العلاجية المتاحة حاليا، فقد أدت إلى ارتفاع معدل الاعتلال، والوفيات، وكذا غلاء ثمن الاستشفاء من بين البكتيريات المتعددات المقاومة (ب.م.م)، تعتبر العنقودية الذهبية المقاومة للمتسيلين و الانتروباكتيريا المنتجة للبيطا لاكطماز ذات الطيف الواسع هما أكبر مصدر للقلق، وذلك بسبب قدرتها المرضية، انتشارها داخل المستشفيات و قدرتها على الانتشار داخل المجتمع.بالاضافة الى هذا، نجد أن بعض ب.م.م ( كالعنقودية الذهبية المقاومة للمتسيلين، إ.كولي وك. بنوموني المنتجة للبيطا لاكطماز) تستطيع أن تستعمر جسم المريض مطولا بعد خروجه من المستشفى، الشيء الذي يساهم في انتشارها داخل الساكنة العامة.

يعتبر انتشار الانتروباكتيريات المنتجة للبيطا لاكطماز، من جهة، أسهل من انتشار العنقودية الذهبية المقاومة للمتسيلين وذلك لأن خزان الاولى (الجهاز الهضمي) اكثر اهمية من خزان الثانية (الجلد، الانف و البلعوم).و من جهة اخرى فإن هذا الانتشار يهم السلالات أنفسهن و جينات المقاومة على حد سواء هذه الاخيرة التي يتم نقلها بسهولة بين البكتيريا بفضل تواجدها داخل عناصر وراثية منتقلة ( البلازميدات، و الترانسبوزونات...) و هو الشيء الذي لا يتوفر في العنقودية الذهبية المقاومة الميتسيلين. إن الهدف من هذه الدراسة هو فهم مقاومة المضادات الحيوية بشكل أفضل وكذا طرح الطرق الممكنة للحد من هذه الظاهرة



*Références*

- [1]. Carlet J, Rambaud C, and Pulcini C. Alliance contre les bactéries multirésistantes : sauvons les antibiotiques ! *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 2012. **31**(9): p. 704-708.
- [2]. the bacterial challenge : time to react. ECDC/EMEA joint technical report. September 2009.
- [3]. Charles Darwin / 1809-1882. Citation Evolution. [www.atheisme.free.fr](http://www.atheisme.free.fr).
- [4]. Comité canadien sur la résistance aux antibiotiques. [www.ccar-ccra.org/history-f](http://www.ccar-ccra.org/history-f).
- [5]. Lucet JC, Chevret S, Durand-Zaleski I, et al. Prevalence and risk factors for carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at admission to the intensive care unit. *Arch Intern Med* 2003;163:181-188.
- [6]. Sexton T, Clarke P, O'Neill E, et al. Environmental reservoirs of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in isolation rooms: correlation with patient isolates and implications for hospital hygiene. *J Hosp Infect* 2006;62:187-194.
- [7]. Cefai C, Ashurst S, Owens C. Human carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* linked with pet dog. *Lancet* 1994;344:539-540.
- [8]. Kiratisin P, Apisarnthanarak A et al. Molecular Characterization and Epidemiology of Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates Causing Health Care-Associated Infection in Thailand, Where the CTX-M Family Is Endemic. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* Aug. 2008, p. 2818-2824 Vol. 52, No. 8. [www.aac.asm.org](http://www.aac.asm.org).
- [9]. Hans H. Infections nosocomiales, épidémiologie et résistance aux antibiotiques. *la Chaux-de-Fonds*. 200;7:1-3.
- [10]. E.A , Infections à *Pseudomonas aeruginosa* : actualités 2012.

- [11]. Hansman D, Bullen M M . A resistant pneumococcus .Lancet 1967; 2: 264-265.
- [12]. Jacobs MR. Koornhof HJ. Robins-Browne RM .Stevenson CM. Vermaak ZA . Freiman I et al. Emergence of multiply resistant pneumococci. N Engl J Med 1978; 299: 735-740.
- [13]. Brisou P. Chamouilli J-M. Gaillard T. Muzellec Y. Infections à pneumocoque .EMC . 2004 Elsevier. 4-260-B-10.
- [14]. Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France,Réseau BMR-Raisin(Résultats 2008) . Institut de veille sanitaire 2008, disponible à [www.invs.sante.fr](http://www.invs.sante.fr).
- [15]. Block P. AND CIE Catalogue Poly-labo, ed. 1994
- [16]. Fleurette J. Taxonomie et écologie des Staphylocoques Med. Mal. Inf., 1990.
- [17]. Prescott L M, Harley J P, Klein D. Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université 2010.
- [18]. Prescott L.M, Harley J.P, Klein D. Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université 2010.
- [19]. Conlon BP et al. Activated ClpP kills persisters and eradicates a chronic biofilm infection. Nature, published online November 13, 2013.
- [20]. Hiramatsu K, Katayama Y, Yuzawa H, Ito T. Molecular genetics of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Int J Med Microbiol 2002; 292:67–74.
- [21]. <http://aac.asm.org/content/53/12/4961/F1.expansion.html>.

- [22]. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev 1997;10: 781–91.
- [23]. Gueudet T , Lemblé C. Détection de la résistance à l'oxacilline chez Staphylococcus aureus : comparaison de cinq techniques utilisables en routine Pathologie Biologie 2004 ; 52 :617–621.
- [24]. Hamdad F, Donda F, Laurans G, Canarelli B, Rousseau F, Biendo et al. Performances des différentes méthodes de détection de la résistance à l'oxacilline de souches atypiques de Staphylococcus aureus, Pathologie Biologie 2006 ; 54 : 447–452.
- [25]. staphylect plus X5240E Avril 2012 révisé  
<http://www.thermoscientific.com/content/dam/tfs/SDG/MBD/MBD%20Documents/Instructions%20For%20Use/STAPHYTECT%20PLUS/X5240E-FR.pdf>.
- [26]. [http://www.biovitrum.ru/images/cms/menu/la\\_9.jpg](http://www.biovitrum.ru/images/cms/menu/la_9.jpg).
- [27]. Laurent et al., Emerging Infectious Disease 2012;18:1465-1467.
- [28]. BD MAX MRSA assay P0133(06) 2014-11 Français
- [29]. Sridhar Rao P.N Assistant Professor Dept. of microbiology JJMMC,Davangere.
- [30]. Owona D et al., Évaluation de méthodes phénotypiques de détection de la résistance hétérogène de Staphylococcus aureus à la meticilline. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, 2002. 17(2): p. 113-117.

- [31]. Laurent F. Staphylococcus aureus en 2011 : résistance, virulence et apports des tests rapides Centre National de Référence des Staphylocoques Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon Unité Inserm U851, Equipe "Pathogénie bactérienne et immunité innée".
- [32]. Moreda R. AntibioGramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé par Rémi Moreda d'après l'édition janvier 2010 du comité de l'antibioGramme de la société française de microbiologie.
- [33]. Laudat P, et al. Dépistage de Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) par biologie moléculaire (Cepheid GeneXpert IL, GeneOhm BD, LightCycler Roche, Hyplex Evigene I2A) versus dépistage par culture : stratégie économique-pratique pour le laboratoire. Pathologie Biologie, 2012. 60(3): p. 208-213.
- [34]. Pakyz AL, MacDougall C, Oinonen M, Polk RE. Trends in anti-bacterial use in US academic health centers: 2002 to 2006. Arch Intern Med 2008;168(20):2254–60.
- [35]. Hidayat LK, Hsu DI, Quist R, Shriner KA, Wong-Beringer A. High-dose vancomycin therapy for methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections: efficacy and toxicity. Arch Intern Med 2006;166(19):2138–44.
- [36]. Steinkraus G, White R, Friedrich L. Vancomycin MIC creep in non-vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus (VISA), vancomycin-susceptible clinical methicillin-resistant S. aureus (MRSA) blood isolates from 2001–05. J Antimicrob Chemother 2007;60(4):788–94.
- [37]. Wang G, Hindler JF, Ward KW, Bruckner DA. Increased vancomycin MICs for Staphylococcus aureus clinical isolates from a university hospital during a 5-year period. J Clin Microbiol 2006;44(11):3883–6.

- [38]. Wayne PA. Clinical, Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI Approved Standard M100-S16. Wayne, PA: The Institute; 2006.
- [39]. Lodise TP, Graves J, Evans A, Graffunder E, Helmecke M, Lomaestro BM, et al. Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(9):3315–20.
- [40]. Sievert DM, Rudrik JT, Patel JB, McDonald LC, Wilkins MJ, Hageman JC. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002–2006. *Clin Infect Dis* 2008;46(5):668–74.
- [41]. Tenover FC, Weigel LM, Appelbaum PC, McDougal LK, Chaitram J, McAllister S, et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(1):275–80.
- [42]. Hiramatsu K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. *Lancet Infect Dis* 2001;1(3):147–55.
- [43]. American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171(4):388–416.
- [44]. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al. Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children: executive summary. *Clin Infect Dis* 2011;52(3):285–92.

- [45]. Diep BA, Afasizheva A, Le HN, Kajikawa O, Matute-Bello G, Tkaczyk C, et al. Effects of linezolid on suppressing in vivo production of staphylococcal toxins and improving survival outcomes in a rabbit model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* necrotizing pneumonia. *J Infect Dis* 2013;208(1):75–82.
- [46]. Nathwani D, Morgan M, Masterton RG, Dryden M, Cookson BD, French G, et al. Guidelines for UK practice for the diagnosis and management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections presenting in the community. *J Antimicrob Chemother* 2008;61(5):976–94.
- [47]. Jacqueline C, Broquet A, Roquilly A, Vourc'h M, Potel G, Caillon J, et al. Impact du linézolide (LZD) et de la vancomycine (VAN) sur la production de cytokines et sur la réponse inflammatoire de l'hôte dans un modèle murin de pneumonie à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM). *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* . 2014 ; 33S ; A220–A225. disponible à l'URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.annfar.2014.07.374>
- [48]. Bouiller K, Laborde C, Bertrand X, Piroth L, Chirouze C. Absence d'association entre CMI à la vancomycine et mortalité dans les bactériémies à *Staphylococcus aureus*. *Posters / Méd mal infect.* 2016 ; 46 : 88-91
- [49]. Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomycin. *Clin Microbiol Rev* 2016;29(2):321—47.
- [50]. del Río A, Gasch O, Moreno A, Peña C, Cuquet J, Soy D, et al. Efficacy and safety of fosfomycin plus imipenem as rescue therapy for complicated bacteremia and endocarditis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a multicenter clinical trial. *Clin Infect Dis* 2014;59(8):1105—12.

- [51]. Shaw E, Miró JM, Puig-Asensio M, Pigrau C, Barcenilla F, Murillas J, et al. Daptomycin plus fosfomycin versus daptomycin monotherapy in treating MRSA: protocol of a multicentre, randomised, phase III trial. *BMJ Open* 2015;5(3):e006723.
- [52]. Y.-M.D. Il fallait y penser : trio d'antibiotiques contre SARM. *Rev option/med.* 2016 ; 27 (549-550) ; p 11
- [53]. Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat.
- [54]. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol.*
- [55]. Gniadkowski M. Evolution of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:11-32.
- [56]. Bradford. *Clin Microbiol.*
- [57]. Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. Prevalence and spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:144-153.
- [58]. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.*
- [59]. Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(Suppl. 1):33-41.
- [60]. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother.*

- [61]. Naas T, Poirel L, Nordmann P. Minor extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:42-52.
- [62]. Livermore DM. Defining an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:3-10.
- [63]. Bertholom C. Détection des BMR chez les entérobactéries. *Option/Bio*, 2013. 24(485): p. 16-18.
- [64]. El brahmi R. PROFIL EPIDEMIOLOGIQUE ET DE RESISTANCE DES BACTERIES MULTI RESISTANTES AU CHU HASSAN II DE FÈS Année 2013.
- [65]. Cattoen C. Infections nosocomiales-infections sur terrain particulier D.U.A.C.A.I 2010-2011.
- [66]. Berra M . étude épidémiologique et méthodes de détection de souches d'entérobactéries productrices de BLSE au CHU Ibn Rochd de Casablanca ; Thèse de pharmacie ; Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 2005, N° 28.
- [67]. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. 2012. Rapid identification of carbapenemase types in Enterobacteriaceae and Pseudomonas spp. by using a biochemical test. *Antimicrob Agents Chemother*. 56:6437-6440.
- [68]. Dortet L, Brechard L, Poirel L, Nordmann P. 2013. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from blood cultures. *Clin Microbiol Infect*.
- [69]. Potron A, Nordmann P, Rondinaud E, Jaureguy F, Poirel L. A mosaic transposon encoding OXA-48 and CTX-M-15: towards pan-resistance. *J Antimicrob Chemother* 2012 ; 68 : 476-7.
- [70]. Carbonnelle E, N.X.I.d.l.s.d.m.d.t.M.d.l.l.d.m.q.c.p.l.c.R.p.

- [71]. Hoyos-Mallecot Y et al., Rapid detection and identification of strains carrying carbapenemases directly from positive blood cultures using MALDI-TOF MS. *Journal of Microbiological Methods*, 2014. 105: p. 98-101.
- [72]. Lettre d'information du CA-SFM concernant la détection de la production de carbapénèmases chez les entérobactéries Janvier 2012.
- [73]. CASFM 2012.
- [74]. Chassagne C. Caractérisation phénotypique de souches d'entérobactéries produisant une oxacillinase-48 isolées lors d'une épidémie survenue au CHU de Nancy en 2009/2011.
- [75]. Nordmann et al. 2011.
- [76]. Giske et al. 2011.
- [77]. COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE Recommandations 2012.
- [78]. Soubirou JF. Témocilline, une alternative aux carbapénèmes pour traiter les infections à entérobactéries résistantes aux C3G ?. 2013 ; 15 (2) ; pages 60-70
- [79]. Woodford N. 2014 ; 30 (8) : 564 -567
- [80]. Granier S, Nicolas-Chanoine MH, Nguyen Van JC, Leflon-Guibout V, Klitzis MD, Goldstein FW. False susceptibility of *Klebsiella oxytoca* to some extended-spectrum cephalosporins. *J Anti-microb Chemother* 2002;50:303—4.
- [81]. Hancock RE, Bedillo F. Factors involved in the enhanced efficacy against Gram-negative bacteria for fourth generation cephalosporins. *J Antimicrob Chemother* 1992;29(Suppl. A):1-6.

- [82]. Nicolas-Chanoine MH, Jarlier V, Robert J, Arlet G, Drieux L, Leflon-Guibout V, et al. Patient's origin and lifestyle associated with CTX-M-producing *Escherichia coli*: a case-control-control study. *PLoS ONE* 2012;7. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0030498> [Epub ahead of print].
- [83]. Gauzit R, Craig A, Brun-Buisson C, Jarlier V, Fantin B. Recommendations de bon usage des carbapénèmes. *J Antiinf* 2010;12:183—9.
- [84]. Lefort A, Nicolas-Chanoine MH. Les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu et les céphalosporines de troisième génération en 2012. *Journal des Anti-infectieux*. 2012 ; 14 ; 51-57
- [85]. Martin D, Fougnot S, Grobost F, Thibaut-Jovelin S, Ballereau F, Gueudet T, et al. Prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in community-onset urinary tract infections in France in 2013. *J Infect* 2016; 72(2):201—6.
- [86]. Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomycin. *Clin Microbiol Rev* 2016;29(2):321—47.
- [87]. Jiang Y, Shen P, Wei Z, Liu L, He F, Shi K, et al. Dissemination of a clone carrying a *fosA3*-harbouring plasmid mediates high fosfomycin resistance rate of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in China. *Int J Antimicrob Agents* 2015;45(1): 66—70
- [88]. Rossignol L, Vaux S, Maugat S, Blake A, Barlier R, Heym B, et al. Incidence of urinary tract infections and antibiotic resistance in the outpatient setting: a cross-sectional study. *Infection* 2016.

- [89]. Johnson JR, Drawz SM, Porter S, Kuskowski MA. Susceptibility to alternative oral antimicrobial agents in relation to sequence type ST131 status and coresistance phenotype among recent *Escherichia coli* isolates from U.S. veterans. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57(10):4856—60.
- [90]. Karlowsky JA, Denisuik AJ, Lagacé-Wiens PRS, Adam HJ, Baxter MR, Hoban DJ, et al. In vitro activity of fosfomicin against *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infections in Canada as part of the CANWARD surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(2):1252—6.
- [91]. Schito GC, Naber KG, Botto H, Palou J, Mazzei T, Gualco L, et al. The ARESC study: an international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents* 2009;34(5): 407—13.
- [92]. Kahlmeter G, Poulsen HO. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections in Europe: the ECOSENS study revisited. *Int J Antimicrob Agents* 2012;39(1):45—51.
- [93]. Östholm Balkhed Å, Tärnberg M, Monstein HJ, Hällgren A, Hanberger H, Nilsson LE. High frequency of co-resistance in CTX-M-producing *Escherichia coli* to non-beta-lactam antibiotics, with the exceptions of amikacin, nitrofurantoin, colistin, tigecycline, and fosfomicin, in a county of Sweden. *Scand J Infect Dis* 2013;45(4):271—8.
- [94]. De Cueto M, López L, Hernández JR, Morillo C, Pascual A. In vitro activity of fosfomicin against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: comparison of susceptibility testing procedures. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(1):368—70.

- [95]. Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2010;10(1):43—50.
- [96]. Oteo J, Orden B, Bautista V, Cuevas O, Arroyo M, Martínez-Ruiz R, et al. CTX-M-15-producing urinary *Escherichia coli* O25bST131-phylogroup B2 has acquired resistance to fosfomycin. *J Antimicrob Chemother* 2009;64(4):712—7.
- [97]. Oteo J, Bautista V, Lara N, Cuevas O, Arroyo M, Fernández S, et al. Parallel increase in community use of fosfomycin and resistance to fosfomycin in extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2010;65(11):2459—63.
- [98]. Honderlick P, Cahen P, Gravisse J, Vignon D. Uncomplicated urinary tract infections, what about fosfomycin and nitrofurantoin in 2006? *Pathol Biol (Paris)* 2006;54(8—9):462—6.
- [99]. Philippon A, Arlet G, Lagrange P. *Escherichia coli* : fréquence de résistance et évolution à divers antibiotiques urinaires dont la fosfomycine en milieu hospitalier (11 816 souches, 1991- 1995). *Med Mal Infect* 1996;26(5):539—41.
- [100]. Schito GC. Why fosfomycin trometamol as firstline therapy for uncomplicated UTI? *Int J Antimicrob Agents* 2003;22(Suppl. 2):79—83.
- [101]. Falagas ME, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Kastoris AC, Mavromanolakis E, Samonis G. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) Enterobacteriaceae isolates to fosfomycin. *Int J Antimicrob Agents* 2010;35(3):240—3.

- [102]. Villar HE, Jugo MB, Macan A, Visser M, Hidalgo M, Maccallini GC. Frequency and antibiotic susceptibility patterns of urinary pathogens in male outpatients in Argentina. *J Infect Dev Ctries* 2014;8(6):699—704.
- [103]. Khan IU, Mirza IA, Ikram A, Ali S, Hussain A, Ghafoor T. In vitro activity of fosfomicin tromethamine against extended spectrum beta-lactamase producing urinary tract bacteria. *J Coll Phys Surg* 2014;24(12):914—7.
- [104]. Endimiani A, Patel G, Hujer KM, Swaminathan M, Perez F, Rice LB, et al. In vitro activity of fosfomicin against blaKPC-containing *Klebsiella pneumoniae* isolates, including those nonsusceptible to tigecycline and/or colistin. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(1):526—9.
- [105]. Kaase M, Szabados F, Anders A, Gatermann SG. Fosfomicin susceptibility in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from Germany. *J Clin Microbiol* 2014;52(6):1893-7.
- [106]. Tuon FF, Rocha JL, Formighieri MS, Sfair S, Bertoldi MB, Palmeiro JK, et al. Fosfomicin susceptibility of isolates with blaKPC-2 from Brazil. *J Infect* 2013;67(3):247—9.
- [107]. Hooper DC. Bacterial topoisomerases, antitopoisomerases, and antitopoisomerase resistance. *Clin Infect Dis* 1998;27(Suppl 1):S54—63.
- [108]. Hooper DC. Mechanisms of quinolone resistance. In: *Quinolone antimicrobial agents*, 3rd Edition. Washington, DC: ASM Press; 2003. p. 41– 67.
- [109]. Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998;351(9105):797–9.
- [110]. Tran JH, Jacoby GA. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(8):5638–42.

- [111]. Tran H, Jacoby GA, Hooper DC. Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein QnrA with *Escherichia coli* topoisomerase IV. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(7):3050–2.
- [112]. Engelberg-Kulka H, Glaser G. Addiction modules and programmed cell death and antideath in bacterial cultures. *Annu Rev Microbiol* 1999;53: 43–70.
- [113]. Martinez-Martinez L, Pascual A, Garcia I, Tran J, Jacoby GA. Interaction of plasmid and host quinolone resistance. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51(4):1037–9.
- [114]. Wang M, Sahm DF, Jacoby GA, Zhang Y, Hooper DC. Activities of newer quinolones against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* containing the plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnr. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(4):1400–1
- [115]. Robicsek A, Sahm DF, Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC. Broader distribution of plasmid-mediated quinolone resistance in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(7):3001–3.
- [116]. Honoré S, Lascols C, Malin D, Targaouchi R, Cattoir V, Legrand P et al. Émergence et diffusion chez les entérobactéries du nouveau mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones Qnr (résultats hôpital Henri-Mondor 2002–2005). *Pathologie Biologie* 2006 ; 54 : p270–279.
- [117]. Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ, et al. Comparative review of the carbapenems. *Drugs* 2007;67:1027–52.
- [118]. Dalhoff A, Janjic N, Echols R. Redefining penems. *Bioch Pharmacol* 2006;71:1085–95.

- [119]. Turner PJ. Meropenem activity against European isolates: report on the MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) 2006 results. *Diag Microb Infect Dis* 2007;60:185–92.
- [120]. Wolffa M, Joly-Guilloub ML , Pajo O. Les carbapénèmes(Comparative review of carbapenems ).Elsevier Masson SAS. 2009 ; 18 :S199-S208
- [121]. Chastre J, Wunderinck R, Prokocimer P, Lee M, Kaniga K, Friedland I. Efficacy and safety of doripenem versus imipenem for ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med* 2008;36:1089–196.
- [122]. American Thoracic Society/Infectious Disease Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated and health care associated pneumonia. *Am J Resp Crit Care Med* 2005;171:388–416.
- [123]. Barie PS, Vogel SB, Dellinger EP, Rotstein OD, Solomkin JS, Yang JY, et al. A randomized, double-blind clinical trial comparing cefepime plus metronidazole with imipenem-cilastatin in the treatment of complicated intra-abdominal infections. Cefepime Intra-abdominal Infection Study Group. *Arch Surg* 1997;132:1294-302.
- [124]. Solomkin JS, Reinhart HH, Dellinger EP, Bohnen JN, Rotstein OD, Vogel SB, et al. Results of a randomized trial comparing sequential intravenous/oral treatment with ciprofloxacin plus metronidazole to imipenem/cilastatin for intra-abdominal infections. The Intra-Abdominal Infection Study Group. *Ann Surg* 1996;223:303–15.
- [125]. Methar S, Dewar EP, Leaper DJ, Taylor EW. A multi-centre study to compare meropenem and cefotaxime and metronidazole in the treatment of hospitalized patients with serious infections. *J Antimicrob Chemother* 1997;39:631–8.

- [126]. Wilson SE. Results of a randomized, multicenter trial of meropenem versus clindamycin/tobramycin for the treatment of intra-abdominal infections. *Clin Infect Dis* 1997;24(Suppl 2):S197-206.
- [127]. Geroulanos SJ. Meropenem versus imipenem/cilastatin in intra-abdominal infections requiring surgery. Meropenem Study Group. *J Antimicrob Chemother* 1995;36(Suppl A):191–205.
- [128]. Brismar B, Malmborg AS, Tunnevall G, Lindgren V, Bergman L, Mentzing LO, et al. versus imipenem/cilastatin in the treatment of intra-abdominal infections. *J Antimicrob Chemother* 1995;35:139–48.
- [129]. Solomkin JS, Umeh O, Jiang J, Kaniga K, Friedland I. Doripenem vs meropenem with an option for oral step-down therapy in the treatment of complicated intra-abdominal infections. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents Chemotherapy, Chicago, 2007: abstract L-487.
- [130]. Yellin AE, Hassett JM, Fernandez A, Geib J, Adeyi B, Woods GL, et al. Ertapenem monotherapy versus combination therapy with ceftriaxone plus metronidazole for treatment of complicated intra-abdominal infections in adults. *Int J Antimicrob Agents* 2002;20:165–73.
- [131]. Solomkin JS, Yellin AE, Rotstein OD, Christou NV, Dellinger EP, Tellado JM, et al. Ertapenem versus piperacillin/tazobactam in the treatment of complicated intra-abdominal infections: results of a double-blind, randomized comparative phase III trial. *Ann Surg* 2003;237:235–45.
- [132]. Montravers P, Gauzit R, Pourriat JL. Antibiothérapie probabiliste des pancréatites. In: *Antibiothérapie probabiliste des états septiques graves*. Paris : Elsevier ; 2004. pp 193–98.

- [133]. Paterson DL. Resistance in Gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. *Am J Med* 2006;119:S20—8.
- [134]. Pschogiou M, Tassios PT, Avlami A, Stefanou I, Kosmidis C, Platsoukas E, et al. Ongoing epidemic of blaVIM-1 positive *Klebsiella pneumoniae* in Athens, Greece: a prospective study. *J Antimicrob Chemother* 2008;1:59—63.
- [135]. Lomaestro BM, Tobin EH, Chang W, Gootz T. The spread of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* to upstate New York. *Clin Infect Dis* 2006;43:26-8.
- [136]. Alexander BT, Marschall J, Tibbetts RJ, Neuner EA, Dunne Jr WM, Ritchie DJ. Treatment and clinical outcomes of urinary tract infections caused by KPC-producing Enterobacteriaceae in a retrospective cohort. *Clin Ther* 2012;34:1314—23.
- [137]. Bulik CC, Nicolau DP. Double-carbapenem therapy for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:3002—4.
- [138]. Giamarellou H, Galani L, Baziaka F, Karaiskos I. Effectiveness of a double-carbapenem regimen for infections in humans due to carbapenemase-producing pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:2388—90.
- [139]. Lee GC, Burgess DS. Treatment of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) infections: a review of published case series and case reports. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2012;11:32.
- [140]. Ceccarelli G, Falcone M, Giordano A, Mezzatesta ML, Caio C, Stefani S, et al. Successful ertapenem-doripenem combination treatment of bacteremic ventilator-associated pneumonia due to colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:2900—1.

- [141]. Oren I, Sprecher H, Finkelstein R, Hadad S, Neuberger A, Hussein K, et al. Eradication of carbapenem-resistant Entero-bacteriaceae gastrointestinal colonization with nonabsorbable oral antibiotic treatment: A prospective controlled trial. *Am J Infect Control* 2013;41:1167-72.
- [142]. Petrosillo N, Giannella M, Lewis R, Viale P. Treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: the state of the art. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013;11:159—77.
- [143]. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intra-venous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemo-ther* 2009;53:3430—6.
- [144]. Pournaras S, Vrioni G, Neou E, Dendrinis J, Dimitroulia E, Poulou A, et al. Activity of tigecycline alone and in combination with colistin and meropenem against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae strains by time-kill assay. *Int J Antimicrob Agents* 2011;37:244—7
- [145]. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouvelekis LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2322—8.
- [146]. Prasad P, Sun J, Danner RL, Natanson C. Excess deaths associated with tigecycline after approval based on noninferiority trials. *Clin Infect Dis* 2012;54:1699—709.
- [147]. Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, Kilayko MC, Sandovsky G, Sordillo E, et al. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:2108—13.

- [148]. Livermore et al. JAC 2011, Walkty et al. AAC 2014, Landman et al. JAC 2011
- [149]. Ramirez J, Dartois N, Gandjini H, Yan JL, Korth-Bradley J, McGovern PC. Randomized phase 2 trial to evaluate the clinical efficacy of two high-dosage tigecycline regimens versus imipe-nem-cilastatin for treatment of hospital-acquired pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:1756—62.
- [150]. Souli M, Konstantinidou E, Tzepi I, Tsaganos T, Pefanis A, Chryssouli Z, et al. Efficacy of carbapenems against a metallo-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* clinical isolate in a rabbit intra-abdominal abscess model. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:611—7.
- [151]. Michalopoulos A, Virtzili S, Rafailidis P, Chalevelakis G, Damala M, Falagas ME. Intravenous fosfomycin for the treatment of nosocomial infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in critically ill patients: a prospective evaluation. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:184—6.
- [152]. Mimoz O, Gregoire N, Poirel L, Marliat M, Couet W, Nordmann P. Broad-spectrum beta-lactam antibiotics for treating experimental peritonitis in mice due to *Klebsiella pneumoniae* producing the carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:2759—60.
- [153]. Neuner EA, Sekeres J, Hall GS, van Duin D. Experience with fosfomycin for treatment of urinary tract infections due to multidrug-resistant organisms. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:5744—8.
- [154]. Neuner EA, Yeh JY, Hall GS, Sekeres J, Endimiani A, Bonomo RA, et al. Treatment and outcomes in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;69:357—62.
- [155]. Hayakawa K, Marchaim D, Divine GW, Pogue JM, Kumar S, Lephart P, et al. Growing prevalence of *Providencia stuartii* associated with the increased usage of colistin at a tertiary health care center. *Int J Infect Dis* 2012;16:e646—8.

- [156]. Merkier AK, Rodriguez MC, Togneri A, Brengi S, Osuna C, Pichel M, et al. Outbreak of a cluster with epidemic behavior due to *Serratia marcescens* after colistin administration in a hospital setting. *J Clin Microbiol* 2013;51:2295—302.
- [157]. Samonis G, Korbila IP, Maraki S, Michailidou I, Vardakas KZ, Kofteridis D, et al. Trends of isolation of intrinsically resistant to colistin Enterobacteriaceae and association with colistin use in a tertiary hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33:1505—10.
- [158]. Kontopidou F, Plachouras D, Papadomichelakis E, Koukos G, Galani I, Poulakou G, et al. Colonization and infection by colistin-resistant Gram-negative bacteria in a cohort of critically ill patients. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:E9—11.
- [159]. Neonakis IK, Samonis G, Messaritakis H, Baritaki S, Georgiladakis A, Maraki S, et al. Resistance status and evolution trends of *Klebsiella pneumoniae* isolates in a university hospital in Greece: ineffectiveness of carbapenems and increasing resistance to colistin. *Chemotherapy* 2010;56:448—52.
- [160]. Parisi SG, Bartolini A, Santacatterina E, Castellani E, Ghirardo R, Berto A, et al. Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* strains producing carbapenemases and increase of resistance to colistin in an Italian teaching hospital from January 2012 to December 2014. *BMC Infect Dis* 2015;15:244.
- [161]. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis* 2016;16:161—8.
- [162]. Dortet L, Bonnin R, Jousset A, Gauthier L, Naas T. Emergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la Pan-résistance. *journal des anti infectieux*. 2016 ; 18 : 139 – 159.

- [163]. Tzouveleki LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clin Microbiol Rev* 2012;25:682—707.
- [164]. Wiskirchen DE, Nordmann P, Crandon JL, Nicolau DP. Efficacy of humanized carbapenem and ceftazidime regimens against Enterobacteriaceae producing OXA-48 carbapenemase in a murine infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:1678—83.
- [165]. Wiskirchen DE, Nordmann P, Crandon JL, Nicolau DP. In vivo efficacy of human simulated regimens of carbapenems and comparator agents against NDM-1-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:1671—7.
- [166]. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Treccarichi EM, Tumietto F, Marchese A, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis* 2012;55:943-50.
- [167]. Betts JW, Phee LM, Hornsey M, Woodford N, Wareham DW. In vitro and in vivo activities of tigecycline-colistin combination therapies against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:3541—6.
- [168]. cattoir V. traitement des infections dues aux entérobactéries productrices de carbapénémases. *Journal des Anti-infectieux* . 2014 ; 16 : 99—105
- [169]. antimicrobs agents chemother ; 2015 ; 59 : 1931-1934. doi:10.1128/AAC.04218-14
- [170]. keepers TR, Gomez M, Celeri C, Nichols W, Krause KM. bactericidal activity, absence of serum effect, and time-kill kinetics of ceftazidime-avibactam against B-lactamase producing enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *AAC*.2014 ; 58(9)

- [171]. Toussait, Gallagher. B-lactamin/B-lactamase inhibitor combinations from then to now. *Annals of pharmacotherapy*.2014 : 1-13.
- [172]. Elmeskini K .Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. 2011.
- [173]. API 20 NE REF 20050 FR-2006/02.
- [174]. Sefraoui I. Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien janvier 2015.
- [175]. De Champs et al., 2002.
- [176]. Jeannot K, Plésiat P. Épidémiologie de la résistance aux  $\beta$ -lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal des Anti-infectieux*.
- [177]. Elaiboud N. Prévalence des souches d'*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à l'imipénème au C.H.U Ibn sina de rabat (Etude prospective de 10 mois). 2013.
- [178]. Azzouzi A. *Acinetobacter baumannii*, Problemes cliniques, epidemiologiques et thérapeutiques 2012.
- [179]. Humphreys H, Towner K J. Impact of *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit in Great Britain and Ireland. *Journal of Hospital Infection* 1997;37:281-6.
- [180]. Kempf M . Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic des infections à *Acinetobacter baumannii*. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2012. 2012(441): p. 67-71.
- [181]. Merad B. Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*. 2014.

- [182]. Brisou P. Chamouilli J-M. Gaillard T. Muzellec Y. Infections à pneumocoque .EMC . 2004 Elsevier. 4-260-B-10.
- [183]. Bentley RW. Leigh JA. Collins MD. Intragenic structure of Streptococcus on comparative analysis of small subunit rRNA sequences. Int JSyst Bacteriol 1991; 41: 487-494.
- [184]. Schleifer KH. Kilpper-Bälz R. Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci. enterococci and lactococci: a review. Syst Appl Microbiol 1987;10: 1-19.
- [185]. Émile C. Un test pour détecter les antigènes solubles du pneumocoque. Option/Bio, 2010. 21(442): p. 9-11.
- [186]. Habyebete S. Actualité sur l'évolution de la résistance du pneumocoque aux antibiotique 2014.
- [187]. Leclercq R. Streptocoques et autres antibiotiques. In : P. Courvalin, F. Goldstein, A. Philippon and J. Sirot, Eds. L'antibiogramme. Bruxelles : MPC/Vigot ; 1985. p. 49-56.
- [188]. Hansman D, Bullen MM. A resistant pneumococcus. MPC/Vigot ; 1985. p. 49-56. Lancet 1967 ; 2 : 264-5.
- [189]. Jacobs MR, Koomhoof HJ, Robins-Browne RM, Stevenson CM, Vermaak ZA, Freiman I, et al. Emergence of multiply resistant pneumococci. N Engl J Med 1978 ; 299 : 735-40.
- [190]. Dublanchet A, Durieux R. Isolement d'une souche de Streptococcus pneumoniae multi résistante aux antibiotiques. Nouv Presse MCd 1979 ; 8 : 872.
- [191]. Peyreffite F, Galland A, Malhuret C. Les pneumocoques aussi sont résistants aux antibiotiques. Nouv Presse M&d 1979 ; 8 : 872.

- [192]. Chardon H. L'antibiogramme du pneumocoque. Revue Francophone des Laboratoires, 2008. 2008(407): p. 45-59.
- [193]. Vergnaud M, Prevost JN, Malbnmy B, Brun J, Leclercq R. Isolation in France of clinical strain of *Streptococcus pneumoniae* susceptible to amoxicillin and resistant to cefotaxime. Clin Microbial Infect 2000 ; 6 : 283-4.
- [194]. Saïdani M. *Streptococcus pneumoniae*: Rappels Bactériologiques & État actuel de la sensibilité aux antibiotiques. Collège mal infect [en ligne ]. 2010 juin [30/06/2010] ; 39 pages. Disponible à l'URL : <http://www.infectiologie.org.tn>
- [195]. Soussy CJ, Drugeon HB, Etienne J, Lascols C, Leclercq R, Mueller-Serieys C, et al. Etude multicentrique de l'activite antibacterienne in vitro du linezolid vis-a-vis des bacteries hospitalieres et courbe de concordance. MCd Ma1 Inf 2001 ; 3 1 (S3) : 459.
- [196]. Neuvième conférence de consensus en thérapeutique anti- infectieuse. Les méningites purulentes communautaires. MCd Ma1 Infect 1996 ; 26 : 1-8.
- [197]. Novak R, Henriques B, Charpentier E. Emergence of vancomycin tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. Nature 1999 ; 399 : 590-3.
- [198]. Cullers JA, English BK, Novak R. Isolation and characterization of vancomycin tolerant *Streptococcus pneumoniae* from the cerebrospinal fluid of a patient who developed recrudescence meningitis. J Infect Dis 2000 ; 181 : 369-73.
- [199]. Varon E, Janoir C, Kitzis MD, Gutmann L. ParC and GyrA may be interchangeable initial targets of some fluoroquinolones in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1999 ; 43 : 302-6.

- [200]. Bryskier A. Fluoroquinolones. Classification, propriétés physicochimiques, activités antibactériennes et pharmacocinétiques. *Encycl Med Chir (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses*, 8-004-B-10. 1999 : I-51.
- [201]. Chen DK, McGeer A, De Azavedo JC. Decreased susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to fluoroquinolones in Canada. *Canadian bacterial surveillance network. N Engl J Med* 1999 ; 22 : 233-9.
- [202]. Janoir C, Zeller V, Kitzis MD, Moreau NJ, Gutmann L. High level fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* requires mutations in *parC* and *gyrA*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996 ; 40 : 2760-4.
- [203]. Munoz R, De la Campa AG. *ParC* subunit of DNA topo- isomérase IV of *Streptococcus pneumoniae* is a primary target of fluoroquinolones and cooperates with DNA gyrase A sub- unit in forming resistance phenotype. *Antimicrob Agents Chemother* 1996 ; 40 : 2252-7.
- [204]. Pan XS, Ambler J, Mehtar S, Fisher LM. Involvement of topo- isomerase IV and DNA gyrase as ciprofloxacin targets in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996 ; 40: 2321-6.
- [205]. Tankovic J, Perichon B, Duval J, Courvalin P. Contribution of mutations in *GyrA* and *ParC* genes to fluoroquinolones resistance of mutants of *Streptococcus pneumoniae* obtained in vivo and in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1996 ; 40 : 2505- 10.
- [206]. Perichon B, Tankovic J, Courvalin P. Characterisation of a mutation in the *ParE* gene that confers fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997 ; 41 : 1166-7.

- [207]. Baranova NN, Neyfakh AA. Apparent involvement of a multi- drug transporter in the fluoroquinolone resistance of *Streptococcus pneumoniae*. *Anti microb Agents Chemother* 1997 ; 41 : 1396-8.
- [208]. Zeller V, Janoir M, Kitzis MD, Gutmann L, Moreau NJ. Active efflux as a mechanism of resistance to ciprofloxacin in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997 ; 41 : 1973-8.
- [209]. Chardon H, Varon E, Bensaid T, Lagier E, Gutmann L. L'épidémiologie de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques. *Med Mal Infect.* 2002 ; 32 Suppl 1: 21-31
- [210]. Laurens G, Murbach V, Cattier B. Observatoires régionaux du pneumocoque : surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des pneumocoques isolés en situation pathogène en France en 1999. *BEH* 2001 ; 33 : 155-9.
- [211]. Doem GV, Heilmann KP, Huynh HK, Rhomberg PR, Coffman SL, Brueggemann AB. Antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States during 1999-2000, including a comparison of resistance since 1994-1995. *Antimicrob Agents Chemother* 2001 ; 45 : 1721-9
- [212]. McDougal LK, Tenover FC, Lee LN. Detection of Tn917-like sequences within a Tn916-like conjugative transposon (Tn3872) in erythromycin-resistant isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998 ; 42 : 23 12-8
- [213]. Hebert L M. Etude de la résistance au lysozyme chez *Enterococcus faecalis*. 2008.
- [214]. Bourdon N. Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques chez les entérocoques en France. *Journal des Anti-infectieux*, 2011. 13(1): p. 2-11.

- [215]. Hebert L. Etude de la résistance au lysozyme chez *Enterococcus faecalis*. Biochemistry, Molecular Biology. Université de Caen, 2008. French.
- [216]. Hervé C, Bergot E, Veziris N, Blanc FX. La tuberculose en 2015 : du diagnostic à la détection des formes résistantes. *Rev Mal Respir*. 2015 ; 32 : 784—790
- [217]. World Health Organization [Dernier accès le 8 mars] [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/gtbr14\\_main\\_text.pdf](http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr14_main_text.pdf)
- [218]. Parrish N, Carroll K. Importance of improved TB diagnostics in addressing the extensively drug resistant TB crisis. *Future Microbiol* 2008;3: 405—13.
- [219]. Lin SY, Desmond E, Bonato D, et al. Multi center evaluation of Bactec MGIT 960 system for second-line drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J Clin Microbiol* 2009;47:3630—4.
- [220]. Chang KC, Yew WW, Zhang Y. Pyrazinamide susceptibility testing in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review with meta-analyses. *Anti-microb Agents Chemother* 2011;55:4499—505.
- [221]. Zhang Y, Yew WW. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009;13:1320—30.
- [222]. Brossier F, Veziris N, Jarlier V, et al. Performance of MTBDR plus for detecting high/low levels of *Mycobacterium tuberculosis* resistance to isoniazid. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009;13: 260—5.
- [223]. Ling DI, Zwerling AA, Pai M. GenoType MTBDR assays for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis: a meta-analysis. *Eur Respir J* 2008;32: 1165—74.

- [224]. Ignatyeva O, Kontsevaya I, Kovalyov A, et al. Detection of resistance to second line anti tuberculosis drugs by use of the genotype MTBDRsl assay: a multi center evaluation and feasibility study. *J Clin Microbiol* 2012;50:1593—7.
- [225]. Bwanga F, Hoffner S, Haile M, et al. Direct susceptibility testing for multi drug resistant tuberculosis: a meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2009;9:67.
- [226]. Steingart KR, Ng V, Henry M, et al. Sputum processing methods to improve the sensitivity of smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2006;6: 664—74.
- [227]. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, et al. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;1: CD009593.
- [228]. Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multi drug resistance: a multicentre implementation study. *Lancet* 2011;377:1495—505.
- [229]. Jamieson FB, Guthrie JL, Neemuchwala A, et al. Profiling of rpoB mutations and MICs for rifampin and rifabutin in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2014;52:2157—62.
- [230]. Diacon AH, Pym A, Grobusch M, et al. The diarylquinoline TMC207 for multidrug resistant tuberculosis. *N Engl J Med* 2009; 360: 2397—405.
- [231]. Diacon AH, Pym A, Grobusch MP, et al. Multi drug resistant tuberculosis and culture conversion with bedaquiline. *N Engl J Med* 2014;371: 723—32.

- [232]. Guglielmetti L, Le Du D, Jachym M, et al. Compassionate use of bedaquiline for the treatment of multidrug resistant and extensively drug resistant tuberculosis: interim analysis of a French cohort. *Clin Infect Dis* 2015; 60: 188—94.
- [233]. Somoskovi A, Bruderer V, Homke R, et al. A mutation associated with clofazimine and bedaquiline cross resistance in MDR-TB following bedaquiline treatment. *Eur Respir J* 2015;45: 554—7.
- [234]. Centre national de référence des mycobactéries et de la résistance aux antituberculeux (CNR-MYRMA). Rapport d'activité pour l'année 2009. Paris: CNR-MYRMA; 2010.
- [235]. Veziris N, Jarlier V, Robert J. Resistance to anti tuberculosis drug in France, 2009-2010. *Bull Epidemiol Hebd* 2012;24—25:291—4.
- [236]. Kim DH, Kim HJ, Park SK, Kong SJ, Kim YS, Kim TH, et al. Treatment outcomes and long-term survival in patients with extensively drug-resistant tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178: 1075—82.
- [237]. Yew WW, Lange C, Leung CC. Treatment of tuberculosis: update 2010. *Eur Respir J* 2011;37: 441—62.
- [238]. Johnston JC, Shahidi NC, Sadatsafavi M, Fitzgerald JM. Treatment outcomes of multidrug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2009; 4: e6914.
- [239]. Naidoo R. Surgery for pulmonary tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med* 2008;14: 254—9.

- [240]. Jouveshomme S, Dautzenberg B, Bakdach H, Derenne JP. Preliminary results of collapse therapy with plombage for pulmonary disease caused by multidrug-resistant mycobacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157: 1609—15.
- [241]. Bakdach H. What is the place of surgery in the treatment of tuberculosis? *Rev Mal Respir* 2006; 23, p10S88—10S91.
- [242]. Weissberg D, Weissberg D. Late complications of collapse therapy for pulmonary tuberculosis. *Chest* 2001;120: 847—51.
- [243]. Haustraete E, Campbell K, Magnier R, Zalcmann G, Bergot E. Intérêt de la collapsothérapie dans la tuberculose pulmonaire ultra-résistante. *Rev Pneumol clin [en ligne]*. 2013 août [07/08/2013] ; 397 :[05 pages]. Disponible à l'URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneumo.2013.08.007>
- [244]. Houssni B. Berkhli H. Madani H. Azzouzi A. résistance bactérienne, consommation d'antibiotiques et politique de gestion de l'antibiothérapie. *L'officinal*. 2011, vol 88, p18-19.
- [245]. Fosseprez P. Antibiothérapie en pratique de ville : Constat et réflexions sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'antibiorésistance [en ligne]. Thèse doctorat en pharmacie. Nancy : université de lorraine. 2013, 116p, disponible sur [http://docnum.univ-lorraine.fr/public/BUPHA\\_T\\_2013\\_FOSSEPREZ\\_PAULINE.pdf](http://docnum.univ-lorraine.fr/public/BUPHA_T_2013_FOSSEPREZ_PAULINE.pdf)
- [246]. GPUE (groupement pharmaceutique de l'union européenne). La contribution des pharmaciens d'officine au control de la résistance aux antibiotiques [en ligne]. 2009, disponible sur : <http://www.pgeu.eu/fr/component/attachments/attachments.html?id=2249&task=download>

- [247]. Ordre national des pharmaciens. Code de déontologie des pharmaciens[en ligne] disponible sur :  
<http://www.ordre.pharmacien.fr/Communications/Rapports-Publicationsordinales/Code-de-deontologie> (consulté le 19.01.2016).
- [248]. Derraji A. le bon sens, un bon remède contre les multirésistances antibiotiques, 2015, n°4378, [en ligne]. disponible sur :  
[http://pharmacie.ma/article/4378/le bon sens un bon remede contre les multiresistances](http://pharmacie.ma/article/4378/le-bon-sens-un-bon-remede-contre-les-multiresistances)
- [249]. Liesse iyamba JM. Etude de l'interaction des souches cliniques de Staphylococcus aureus avec une surface abiotique Octobre 2012.
- [250]. Binax Now S. pneumoniae® inverness medical.
- [251]. [www.Onerba.org](http://www.Onerba.org)
- [252]. Jehl F et al. CA-SFM / EUCAST. mars 2017

## *Serment d'Hippocrate*

*Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.*

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

# قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- < بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية .
  - < وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه .
  - < وأن أمارس مهنتي بوانزع من ضميري وشر في جاعلا صحة مريض هدي الأول .
  - < وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي .
  - < وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب .
  - < وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي .
  - < وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي .
  - < وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها .
  - < وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد .
  - < بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بشري في .
- والله على ما أقول شهيد .

جامعة محمد الخامس – الرباط  
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 275

سنة : 2017

## البكتيريا المتعددة المقاومة تطورها في المكان وعبر الزمان

### أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : .....

من طرفه

**السيد: مروان بلوقي**

المزاد في: 26 شتنبر 1989

طبيب داخلي بالمركز الاستشفائي الجامعي ابن سينا بالرباط  
من المدرسة الملكية لمصلحة الصحة العسكرية – الرباط

**لنيل شهادة الدكتوراه في الطب**

**الكلمات الأساسية:** ب. م. م – العنقودية الذهبية المقاومة للميتيسيلين – الأنتروباكتيريا المنتجة للكاربابينيماز – الأنتروباكتيريا المنتجة للبيطالكاماز – التعفنات الاستشفائية.

### تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرف

أعضاء

السيد: ميمون زوهدي  
أستاذ في علم الأحياء الدقيقة  
السيدة: سكينه الحمزاوي  
أستاذة في علم الأحياء الدقيقة  
السيد: أحمد كوزي  
أستاذ في طب الأطفال  
السيد: ياسين سخسوخ  
أستاذ في علم الأحياء الدقيقة  
السيدة: سعيده طلال  
أستاذة في الكيمياء الحيوية  
السيدة: نزهة السعودي  
أستاذة في علم الدم البيولوجي