

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique



Université BADJI MOKHTAR - Annaba

Faculté de médecine

Département de médecine



**Thèse pour l'obtention du grade
de Docteur En Sciences Médicales**

**« Profil bactériologique des infections nosocomiales
au service de réanimation médicale
du CHU Annaba »**

Document de soutenance :

Le Docteur Kamel Amoura
Maître assistant en Microbiologie

Composition du Jury :

Président du jury :

Professeur M.LAOUAR

Directeur de thèse :

Professeur DEKHIL Mazouz

Membres de jury :

Professeur F. SMATI

Professeur A. BOUHROUM

Professeur M. GHARBI

Année 2013

Remerciements

A **Monsieur le professeur LAOUAR Maamar**, chef du service des maladies infectieuses du CHU Annaba. Je vous exprime mes vifs remerciements pour l'honneur que vous me faites de présider le jury de cette thèse. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et ma sincère reconnaissance.

A **Monsieur le Professeur DEKHIL Mazouz**, mon maître et directeur de thèse. Je tiens à vous remercier pour votre confiance, votre disponibilité, et vos conseils. Auprès de vous j'ai beaucoup appris. Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude, de mon profond respect et ma sincère reconnaissance.

A **Madame le professeur SMATI Farida**, chef de service microbiologie du CHU Ibn Badis de Constantine. Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de juger cette thèse. Soyez assurée de ma sincère gratitude et de mes remerciements.

A **Monsieur le professeur BOUHROUM Abdelhafid**, chef de service des urgences médicales et SAMU du CHU Ibn Badis de Constantine. Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude, vous me faites l'honneur de participer au jury de soutenance. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et ma sincère reconnaissance.

A **Monsieur le professeur GHARBI Mohamed**, chef de service épidémiologie du CHU Annaba. Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de juger cette thèse. Soyez assuré de ma sincère gratitude et de mes remerciements.

Remerciements

A Monsieur le Docteur BENTAKOUK MC réanimateur, chef de service réanimation du CHU Annaba,

Vous avez été très aimable lorsque vous m'avez ouvert les portes du service, je suis très touché par l'intérêt que vous accordez à ce travail, merci pour votre soutien et vos conseils. Puisse ce travail vous satisfaire et témoigner de ma haute considération et mon profond respect.

A mes consœurs, confrères et amis : **Dr Antri, Dr Aissi, Dr Ariba, Dr Dahdouh-Akil**, pour leur accueil, leur disponibilité et leur collaboration étroite, qui a permis la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

A tout le personnel du service réanimation, un grand merci. Soyez assuré de ma sincère gratitude et de mes remerciements.

Je tiens à remercier sincèrement monsieur le **professeur Alain Lepape, réanimateur chef de service réanimation du CHU Lyon sud, membre du CCLIN Sud-Est France**, de m'avoir accueilli dans le service de réanimation des HCL, pour sa disponibilité et toute l'aide apportée à la réalisation de ce travail de recherche. Soyez assuré de ma sincère gratitude et de mes remerciements.

Je tiens à remercier vivement le **Professeur Jean Marc Rolain, professeur en microbiologie à la faculté de pharmacie la Timone à Marseille**, de m'avoir ouvert les portes de son laboratoire, et permis de réaliser le typage moléculaire des souches. Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

Je tiens à remercier le **Professeur H Richet, professeur épidémiologie et praticien au service microbiologie, membre de l'équipe opérationnelle de l'hygiène hospitalière à la Timone à Marseille** pour sa contribution dans ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

Je tiens remercier également tous mes collègues, le personnel médical et paramédical du service et pour leur contribution dans la réalisation de ce travail.

A tous ceux qui m'ont aidé à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

Introduction	1
I-Historique	3
II- Définition	4
III- Epidémiologie des infections nosocomiales en réanimation	4
IV- Caractéristiques générales des infections nosocomiales en réanimation	9
IV-1-Les sites de l'infection	9
IV-2- Incidence des infections nosocomiales	9
IV-3- La maladie initiale des germes	10
IV-4- les facteurs de risque	10
IV-5-Origine des germes.....	10
IV-6- Germes en cause	10
IV-7- Les corrélations pharmacocinétique/pharmacodynamie (PK/PD).....	11
IV-8- Conséquences des infections nosocomiales	12
IV-9- Prévention des infections nosocomiales.....	13
V- Formes clinique et diagnostic des infections nosocomiales	
V- 1- Les pneumopathies nosocomiales	14
1. Définition	14
2. Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique	14
2-1 Microbiologie	14
2-2- Morbi-mortalité	15
3. Critères diagnostiques des pneumopathies nosocomiales	17
4. Diagnostics des pneumopathies associées à la ventilation	18
5. Les pneumopathies nosocomiales virales	23
6. Traitement des pneumopathies nosocomiales	24
7. Prévention	25
VI-2-: Les infections urinaires	26
1Epidémiologie	26
2- Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales	27
3- facteurs de risques	28
4- Critères de diagnostics des infections urinaires	29
5- Aspects diagnostic	29
6- traitement	36
7-prévention	36
VI-3- Les infections liées aux cathéters	37
1 -Définition.....	37
2-Epidémiologie	38
3- Facteurs de risque	38
4 Physiopathologie	38

5- Microbiologie	39
6- Morbidité, mortalité	39
7- Critères diagnostiques	39
8-Diagnostic clinique.....	40
9- Diagnostic microbiologique	41
10- Stratégie thérapeutique	43
11- Prévention	44
VI : Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	46
1. La résistance aux β -lactamines	46
A- Les entérobactéries.....	46
B- <i>Acinetobacter baumannii</i>	51
C- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
D- <i>Staphylococcus aureus</i>	56
2. La résistance aux aminosides.....	56
3. La résistance aux fluoroquinolones.....	58
VIII : Marqueurs épidémiologiques des infections nosocomiales	59
1. Outils de typage	62
2. Marqueurs phénotypiques	61
3. Marqueurs génotypiques	63
4. Nouvelles techniques.....	67

MATERIELS ET METHODES :

I- Le profil bactériologique et épidémiologique des infections nosocomiales	68
Lieu et période de l'étude	68
Type d'enquête	68
Critères d'inclusion	68
Critères de non inclusion	69
Recueil des données	69
II- Etude bactériologique :	
1- Prélèvements bactériologique	70
2- Techniques bactériologiques :.....	71
2-1Etude cyto bactériologique des prélèvements bronchiques	71
2-2Etude cyto bactériologique des CVC	71
2-3Hémoculture	71
2-4 Etude cyto bactériologique des urines	72
3- Identification bactérienne	72
4- Etude de la sensibilité aux antibiotiques	73
5- Etude moléculaire	75
5-1- Entérobactéries	75

5-2- <i>Acinetobacter baumannii</i>	75
5-3- <i>Staphylococcus aureus</i>	76
III- Analyse statistique :	77

RESULTATS :

I- Caractéristiques épidémiologiques des infections nosocomiales en réanimation	79
1- Incidence des infections nosocomiales	79
2- Caractéristiques épidémiologiques des patients	80
3- Répartition des patients selon l'âge	81
4- Répartition des patients admis en réanimation selon l'exposition aux dispositifs invasifs	81
5- Répartition des patients admis en réanimation selon la durée d'exposition aux dispositifs invasifs.....	82
6- Répartition selon le ratio d'exposition aux dispositifs invasifs.....	82
7- Répartition des IN acquises en réanimation en fonction du site.	82
8- Répartition des patients selon le nombre d'épisode d'infection nosocomiale durant le séjour en réanimation médicale	83
9- Répartition des infections nosocomiales selon leur délai d'apparition	83
10- Répartition des PAVM selon le délai d'apparition	84
11- Répartition des bactériémies selon la porte d'entrée	84
12- Consommation des antibiotiques en réanimation.....	85
13- Coût engendré par l'allongement de la durée de séjour	86
II- Etude bactériologique	87
1- Enquête d'environnement	87
2- Répartition des germes isolés de l'environnement du service.....	89
3- Répartition des germes isolés des IN.....	90
4- Répartition des germes isolés des PAVM.....	92
5- Répartition des germes isolés des PAVM.....	93
6- Répartition des germes isolés des IUN	94
7- Répartition des germes isolés des bactériémies nosocomiales	95
8- Répartition des germes isolés des BLC	95
III- Résistance aux antibiotiques des germes isolés.....	96
1- Résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	96
2- Résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella oxytoca</i>	97
3- Résistance aux antibiotiques de <i>Acinetobacter baumannii</i>	100
4- Résistance aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	103
5- Fréquence des sérotypes de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	105
6- Résistance aux antibiotiques du genre <i>E.coli</i>	108
7- Résistance aux antibiotiques du genre <i>Enterobacter sp</i>	111
8- Résistance aux antibiotiques du genre <i>Proteus.sp</i>	113
9- Résistance aux antibiotiques des isolats <i>Morganella morganii</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Raoultella ornithinolytica</i> et <i>Providencia stuartii</i>	115
10- Résistance aux antibiotiques du de <i>Staphylococcus aureus</i>	117

11- Résistance aux antibiotiques de <i>Burkholderia cepacia</i> et de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	119
12- Résistance aux antibiotiques du genre <i>Enterococcus sp.</i>	119
13- Résistance aux antibiotiques du genre <i>haemophilus influenzae</i>	120
14- Indicateurs des infections nosocomiales acquises en réanimation médicale.....	120
IV- Etude moléculaire	121
1- Résultats de la recherche des genes BLSE chez les enterobactéries par PCR.....	122
2- Résultats de la recherche de la carbapenemase (<i>Bla_{NDM-1}</i>) Par PCR :.....	127
3- Résultats de la recherche des carbapenemase type <i>Bla_{OXA}</i> chez <i>Acinetobacter baumannii</i> par PCR	128
4- Resultats du sequençage.....	130
5- Résultats de la recherche des gènes Mec A, de la toxine TSST et de la leucocidine de Pantone Valentine (PVL) chez des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	145
6- Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	149
7- Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches de <i>Raoultella ornithinolytica</i>	151
8- Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d' <i>Enterobactercloacae</i>	152
9- Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d' <i>E.coli</i>	153
10- Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	154
DISCUSSION	156
CONCLUSION	203
BIBLIOGRAPHIE	205
ABREVIATIONS	232
LISTE DES TABLEAUX	234
LISTE DES FIGURES	237
ANNEXES	
SUMMARY	

INTRODUCTION

L'infection nosocomiale est une infection acquise dans un établissement de soins, qui était ni présente ni en incubation à l'admission [1, 2, 3].

L'infection nosocomiale constitue un problème de santé publique par son coût et par la morbidité et la mortalité qu'elle engendre. Elle est la cause de séquelles souvent considérables.

Elle est particulièrement **fréquente dans les services de réanimation où elle peut affecter 30 % des patients [4]**. Sa principale caractéristique dans ce cas est d'être associée aux techniques de suppléance invasive utilisées pour pallier une défaillance vitale [2].

Le coût économique est important dû essentiellement à un allongement de la durée d'hospitalisation, au traitement anti-infectieux et aux examens de laboratoire nécessaires au diagnostic et à la surveillance de l'infection.

La prise en charge des infections nosocomiales en réanimation se heurte à deux problèmes, l'émergence de souches bactériennes **responsables des infections qui sont** multirésistantes aux antibiotiques usuels, et la pénurie de nouvelles molécules antibiotiques capables de faire face à l'émergence de ces souches résistantes.

Les infections à **bactéries multi-résistantes constituent** une charge financière de plus en plus lourde sur **le budget de la santé**. En effet la survenue d'une infection nosocomiale à BMR induit **la prescription d'antibiotiques à large spectre souvent très onéreux et des durées de traitement allongées**. Cela entraîne une consommation élevée d'antibiotiques et un allongement de la durée d'hospitalisation.

La multi-résistance bactérienne aux antibiotiques réduit les possibilités thérapeutiques. L'émergence de BMR et leur diffusion résultent de la pression de sélection par les antibiotiques et de la transmission croisée des souches résistantes.

La prévalence de la résistance bactérienne aux antibiotiques est en perpétuelle augmentation depuis plusieurs années, particulièrement aux β -lactamines principale famille d'antibiotiques utilisée en clinique. Plusieurs études dans le monde et en Algérie ont montré l'émergence de souches pan-résistantes par l'association de multiples mécanismes de

résistance, ces souches sont en général coproductrices de BLSE et de carbapénèmases [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12].

La détection phénotypique de ce type de résistance peut se heurter à des difficultés. En effet certains tests manquent de sensibilité et ne peuvent détecter toutes les résistances, d'où le risque d'échec thérapeutique avec ses conséquences sur la morbidité, la mortalité et la dissémination de ces souches.

Le développement de nouvelles techniques de biologie moléculaire et leur application en microbiologie médicale a permis de faire des avancées par la détection directe du support génétique de la résistance. Ces outils de typage sont très utiles pour le traitement de ces infections.

La maîtrise des infections nosocomiales en réanimation et le contrôle de la diffusion des souches bactériennes multi-résistantes reposent sur le pré-requis de leur surveillance. Dans ce cadre, il est important de connaître le profil de résistance des germes responsables d'infections nosocomiales et de déterminer leurs supports génétiques pour pouvoir agir de façon ciblée et adapter la prévention.

Peu de données sur les infections nosocomiales et le profil de résistance des bactéries en causes au service de réanimation médicale en Algérie ont été rapportées. Pour ces raisons nous nous sommes proposé de réaliser ce travail **dont l'objectif principal est de:**

- **Déterminer le profil bactériologique des infections nosocomiales.**

Les objectifs secondaires sont :

- Caractériser les gènes de résistance aux β -lactamines des germes isolés afin de connaître les principaux mécanismes de leur dissémination.
- Déterminer les caractéristiques épidémiologiques des infections nosocomiales.

I - Historique: [13,14]

Les infections nosocomiales, longtemps dénommées « surinfections », « infections hospitalières », « infections acquises à l'hôpital », existent depuis la création des premières structures de soin.

En **1740**, **John Pringle** fait les premières observations sur les infections acquises à l'hôpital.

En **1846**, **Ignace Philippe Semmelweis** obstétricien Hongrois, a mis en place les premières recommandations concernant l'hygiène des mains chez le personnel soignant.

En **1874**, **Louis Pasteur** a déclaré : « Si j'avais l'honneur d'être un chirurgien, jamais je n'introduirais dans le corps de l'homme un instrument quelconque sans l'avoir fait passer dans l'eau bouillante ou mieux encore dans la flamme »,

En **1867**, **Joseph Lister** a introduit les premières notions d'antisepsie.

En **1928**, la découverte des antibiotiques a modifié les perceptions et les moyens d'actions face aux infections.

Les années 50 ont été marquées par la parution de nombreuses publications rapportant une proportion croissante de germes résistants aux antibiotiques.

En **1973**, création de **comités de lutte contre les infections nosocomiales** dans les établissements publics en France.

En Algérie, l'hygiène hospitalière a toujours été au centre des préoccupations des pouvoirs publics, en témoigne la promulgation de nombreux arrêtés et lois relatifs à l'organisation et la promotion de cette activité de prévention. Depuis 1982, date de la création des commissions d'hygiène au sein des établissements de santé, plusieurs comités ont été mis en place notamment la création du **réseau des laboratoires de microbiologie** pour la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques en 1999, et le **comité national de lutte contre les infections nosocomiales** en 2005 [15].

II - Définition:[1, 2, 3]

L'infection nosocomiale se définit comme une infection contractée dans un établissement de soins, alors qu'elle n'était ni présente ni en incubation à l'admission. Un délai d'au moins 48 heures entre l'admission et l'état infectieux est retenu.

Le caractère nosocomial est basé essentiellement sur le délai écoulé entre l'admission et le début de l'infection. **Ce délai doit être supérieur à la durée d'incubation de l'infection.**

L'infection nosocomiale est désormais intégrée dans les infections associées aux soins (IAS), Une infection est dite associée aux soins si elle survient **au cours ou au décours d'une prise en charge** d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge, il est **recommandé d'apprécier dans chaque cas la plausibilité de l'association entre la prise en charge et l'infection.**

III - Epidémiologie des infections nosocomiales en réanimation :

L'épidémiologie des infections nosocomiales en réanimation est variable, elle dépend de plusieurs facteurs :

- Le type de service de réanimation.
- Le type de recrutement de malade.
- Les protocoles d'antibiothérapies utilisés et des mesures préventives mises en œuvre dans le service.

1- Dans le monde :[16]

Les résultats de l'étude EPIIC 2 (extended prevalence of infection in intensive care 2), prévalence un jour donné (réalisée en Mai 2007) avec la participation de 1265 réanimations de 75 pays du monde montrent que :

- Le jour de l'enquête, 51 % des patients étaient considérés comme infectés, les pneumopathies nosocomiales étaient les plus fréquentes avec un taux de 64 %.
- Les bactéries à Gram négatif représentent 62 % des isolats : avec respectivement *Pseudomonas sp* dans 19.9%, *E.coli* dans 16 % des cas, et *Klebsiella sp* dans 12.7% des cas.

Dans cette étude, la mortalité attribuable est de 25% chez les patients avec IN, soit le double (25 % vs 11%) que la mortalité chez les patients non infectés.

2- En Europe : [17]

Les résultats de l'étude HELICS-ICU de la surveillance européenne des unités de soins intensifs de sept pays (Autriche, Belgique, France, Allemagne, Espagne, Luxembourg, Lituanie) montrent que :

- Le *Staphylococcus aureus* est le germe le plus isolé des PAVM, il représente 19.6 % des isolats, et le taux de résistance à la méthicilline est de 38.7 %.
- Les taux des bactériémies est 3.1 %, avec une densité d'incidence de 1 infection/ 1000 jours en réanimation. *Staphylococcus* coagulase négative est le germe le plus isolé avec une fréquence de 29 %.

2-1- En France :[18]

Le rapport de 2010 du réseau français REA-Raisin sur la surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte, montre que:

- L'exposition aux dispositifs invasifs en réanimation est fréquente :
 - 64.5 % des patients sont intubés/trachéotomisés avec un ratio d'exposition au dispositif invasif (REDI) de 60.8 %.
 - 87 % des patients sont porteurs de sondes avec un REDI 84.2 %.
 - 63.3 % des patients sont porteurs de cathéter veineux central avec un REDI de 66%.
- 13.2 % des patients surveillés ont présenté une infection nosocomiale. Les pneumopathies sont les infections les plus fréquemment observées suivies des bactériémies, des infections urinaires.
- L'incidence des infections nosocomiales par site est de 14.14 Pneumopathies pour 1000 jours de ventilation, 3.37 bactériémies pour 1000 jours d'hospitalisation en réanimation, 3.94 infections urinaires pour 1000 jours de sondage et 0.48 bactériémie liée au cathéter pour 1000 jours de cathétérisme.
- Les germes les plus fréquemment isolés sont : *Pseudomonas aeruginosa* (14.4%), *E.coli* (12.5%), *S.aureus* (12.2%), *S.epidermidis* (7.3%).
- La résistance à la ceftazidime est de 75.8 % pour *Acinetobacter baumannii* et 18.2 % pour *Pseudomonas aeruginosa*. La résistance aux céphalosporines de 3^e générations (C3G) est

de 27.1 %. La résistance à la méthicilline pour les souches de *Staphylococcus aureus* est de 35 % et 2.1 % de résistance à la vancomycine chez les entérocoques.

3-2 En Turquie : [19]

L'incidence des infections nosocomiales est de 38.3 % soit 33.9 IN pour 1000 jours de réanimation. Les PAVM sont les plus fréquentes 47.4 % (26.5 cas pour 1000 jours de ventilation mécanique), suivies des BLC 30 % (17.6 BLC pour 1000 jours de cathétérisme) et les IUN 22.1 % (8.3 IUN pour 1000 jours de sondage).

La résistance bactérienne est élevée dans cette étude : 89.2 % des *Staphylococcus aureus* sont méthicillino-résistant, 48.2 % des entérobactéries sont résistantes au ceftriaxone, le *Pseudomonas aeruginosa* résiste aux fluoroquinolones dans 51.1 %, à la ceftazidime dans 50.7 % et à l'imipénème dans 38.7 % des cas. La résistance des entérocoques à la vancomycine est de 1.9 %.

3-En Amérique :

3-1- Aux USA :[20]

L'étude qui a porté sur la résistance des bacilles à Gram négatif responsables d'infections nosocomiales en réanimation aux USA de 1994 à 2004, montre que :

- Les pneumopathies nosocomiales sont les plus fréquentes avec 52.1 %, suivies des IUN et des bactériémies avec respectivement 17.3% et 14.2 %.
- Les germes les plus fréquemment isolés sont : *Pseudomonas aeruginosa* (22.2 %), *E coli* (18.8 %), *K.pneumoniae* (14.2 %), *Enterobacter cloacae* (9.1 %), *Acinetobacter sp* (6.2 %).
- La résistance aux antibiotiques montre :
 - 18.3 % des souches de *Pseudomonas* résistent à l'imipénème, 10.8 % à la ceftazidime et 33.7 % à la ciprofloxacine.
 - 6.6 % des souches de *E coli* sont sécrétrices de BLSE, 0.3 % de résistance à l'imipénème.
 - 16.5 % des *K.pneumoniae* sont BLSE +, et 1.7 % sont résistantes à l'imipénème.
 - 64.8 % des *Acinetobacter sp* résistent à la ciprofloxacine, 54.8 % de résistance à piperacilline-tazobactam et 28.5 % de résistance à l'amikacine.

3-2- En Argentine :[21]

Dans l'unité de réanimation médico-chirurgicale de Buenos aires, Argentine : l'incidence des IN est de 27 % soit 90 infections/ 1000 jours patients, les bactériémies liées aux CVC sont les plus fréquentes (32 %), Suivies des pneumopathies (25 %) et d'infections urinaires (23 %).

Le taux d'infection par site :

- Les BLC : 44.61 infection pour 1000 jours de cathétérisme, avec un allongement de séjour de 12 jours et une mortalité attribuable de 25%.
- Les PAVM : 50.87 PAVM pour 1000 jours de ventilation, un allongement de séjour de 10 jours et une mortalité attribuable de 35 %.
- L'IUN: 22.55 infection pour 1000 jours de sondage, la durée de séjour est allongée de 5 jours et une mortalité attribuable de 5%.

4- En Asie :

4-1-En Inde : [22]

- L'incidence des IN dans les 12 réanimations des 7 hôpitaux inclus dans l'étude est de 4.4 % soit 9.06 infection pour 1000 jours en réanimation.
- Les taux d'infection par site sont : 10.46 pneumopathie pour 1000 jours de ventilation, 7.92 bactériémie pour 1000 jours de cathétérisme central, 1.41 infection urinaire pour 1000 jours de sondage.
- 27.3 % des IN sont causées par *Pseudomonas aeruginosa*, avec 64.9 % de résistance à la ceftazidime, 42 % de résistance à la ciprofloxacine et 40% à l'imipenème. 6.2 % des isolats d'*Acinetobacter sp* et 3.1 % de *Staphylococcus aureus*.
- 71 % des entérobactéries sont résistantes au ceftriaxone et 42.6 % à l'association Piperacilline-tazobactam.

4-2- Au Philippines:[23]

- L'incidence des IN est de 4.9 soit 12.8 IN pour 1000 jours en réanimation. Les PAVM sont les plus fréquentes avec 16.7 infection pour 1000 jours de ventilation mécanique. Suivies des BLC et des IUN avec 4.6 BLC pour 1000 jours de cathétérisme et 4.2 IU pour 1000 jours de sondage urinaire.
- Les IN sont à l'origine d'un allongement de séjour de : 16.2 jours pour les BLC, 12.6 pour les PAVM, et 11.9 pour les IUN. La mortalité attribuable aux IN est de 6.8 %.

-
- *Acinetobacter sp* est le germe le plus dominant dans 21% des cas, suivi du *P.aeruginosa* dans 19,7%, et *Enterobacter sp* dans 13,2%
 - 56% des souches de *P.aeruginosa* sont résistantes à la l'imipenème,

5- En Afrique :

5-1- Au Maroc :[24]

L'incidence des IN est de 14.5 % et un taux de 22.22 IN / 1000 jours en réanimation, les BLC sont les plus fréquentes en réanimation 15 BLC/1000 jours de cathétérisme, les PAVM et les IUN suivent avec des taux de 43.2 PN/ 1000 jours de ventilation et 11.7 IUN/1000 jours de sondage urinaire.

24.1 % des infections sont causées par *Acinetobacter sp* dont 78.6 % sont résistantes à l'association piperacilline-tazobactam, le *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 23.1 % avec 35.6 % de résistance à la ceftazidime et 13.5 % de résistance à l'imipenème.

75 % des *Klebsiella sp* résistaient au ceftriaxone, et 31.9 % des *Ecoli* résistaient au même antibiotique. L'*Enterobacter sp* isolé dans cette étude présente une résistance à l'imipenème de l'ordre de 10 %.

5-2- En Egypte : [25]

L'incidence des IN est de 19.3 % avec un taux de 20.5 IN pour 1000 jours de réanimation. Les PAVM sont plus fréquentes suivies des BLC et des IUN avec respectivement 30.3 %, 9.1 % et 2.9 % infection pour 1000 jours de d'exposition aux dispositifs invasifs.

Les germes les plus fréquemment rencontrés sont par ordre décroissant : *Acinetobacter baumannii* 36.1 %, *Klebsiella pneumoniae* 29.2 % et *Pseudomonas aeruginosa* 22.2 %.

Les taux de résistance aux antibiotiques sont élevés avec : 85 % de résistance de l'*A.baumannii* à la ciprofloxacine et l'imipenème, 76 % des *Klebsiella pneumoniae* sont sécrétrices de BLSE, et 56 % des *Pseudomonas* sont résistants à l'imipenème.

6- En Algérie :[26]

Nous n'avons pas retrouvés de données concernant le sujet.

Le rapport de 2010 du réseau algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques montrent que :

-
- Les entérobactéries sont les germes les plus fréquemment isolés en réanimation (52.2%), suivies de *Pseudomonas aeruginosa* (17.4 %), *Staphylococcus aureus* (17.2 %) et *Acinetobacter baumannii* (13.2%).
 - 23.3 % des souches isolées en réanimation sont des BMR, un pourcentage de résistance à l'imipénème de 20,9 % et 39.3 % pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* et 26.7 % de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline.

IV- Les caractéristiques générales des infections nosocomiales en réanimation : [27]

Une unité de réanimation quelle que soit son orientation héberge des patients présentant des défaillances vitales, et l'objectif principal de la réanimation est de suppléer ces défaillances.

1- Les sites de l'infection :

Les plus fréquemment retrouvés par ordre décroissant :

- Les poumons.
- Les voies urinaires.
- Le sang
- Le site opératoire.

2- Incidence des infections nosocomiales : [3].

La comparaison des taux d'infections d'un service à l'autre est rendue délicate par :

- Les différences des techniques diagnostiques utilisées.
- Les différences entre les populations étudiées.

Les différences des techniques diagnostiques peuvent expliquer à elles seules les variations de taux d'un service à l'autre. L'exemple des pneumopathies acquises sous ventilation est l'illustration en fonction de l'utilisation des cultures quantitatives ou qualitatives des prélèvements.

La surveillance des IN repose sur la mesure des taux d'attaque globaux, spécifiques et des taux d'incidence. Le taux d'attaque spécifique est rapporté à l'exposition au dispositif invasif en cause, et le taux d'incidence à la durée d'exposition au dispositif.

3- La maladie initiale :

Elle peut être à l'origine de la baisse des défenses naturelles, toute affection aigue grave entraine une réduction des capacités de défense particulièrement durant les 7 à 15 jours après sa survenue, période ou la densité de soins est la plus élevée.

4- Les facteurs de risque : [4]

Les facteurs prédisposant aux infections nosocomiales en réanimation sont répartis en 04 groupes :

- L'utilisation des dispositifs invasifs
- L'immunodéficience.
- Les facteurs liés à la maladie aigue.
- Les protocoles thérapeutiques utilisés.

5- Origine des germes :

Deux voies de contamination sont possibles :

- La voie endogène : à l'origine de la majorité des infections, avec colonisation des sites stériles par la flore du patient lui-même à la faveur de la rupture des barrières de défense.
- La voie exogène : associée à la colonisation suivie de l'infection par des bactéries extérieures provenant d'autres patients ou de l'environnement.

6- Germes en cause :

Les IN en réanimation peuvent être poly-microbiennes et tous les micro-organismes peuvent être responsables. Il existe des variations d'une réanimation à l'autre en fonction des sites d'infections, des protocoles d'antibiothérapie, de l'écologie locale et des mécanismes de résistance.

La caractéristique la plus importante des IN en réanimation c'est d'être souvent due à des bactéries résistantes, voire multi-résistantes en rapport avec la pression de sélection des antibiotiques.

7-Les corrélations pharmacocinétique/pharmacodynamie (PK/PD) des antibiotiques chez les patients de réanimation : [28-29]

L'antibiothérapie en réanimation pose fréquemment des problèmes d'adaptation de posologie, l'optimisation des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques (PK/PD) des antibiotiques revêt plus d'importance chez les malades les plus sévères. Les patients de réanimation posent des problèmes particuliers : en termes pharmacocinétiques, ils sont à risque de concentrations sériques et tissulaires basses et de variabilité importante, nécessitant des ajustements posologiques et des dosages d'antibiotiques ; en termes pharmacodynamiques, les patients sont à risque accru d'infections à germe de sensibilité diminuée

Afin d'offrir au patient les meilleures garanties de succès clinique et bactériologique, La connaissance des relations PK/PD des antibiotiques utilisés est un atout, dans la mesure où le profil pharmacocinétique et les caractéristiques pharmacodynamiques sont des propriétés intrinsèques de chaque molécule, vis-à-vis d'une souche bactérienne donnée. Il est important d'adapter le schéma posologique d'un antibiotique à son profil de bactéricidie en tenant compte de l'espèce bactérienne en cause et de la variabilité pharmacocinétique propre aux patients

Les objectifs de la pharmacocinétique (PK) est de calculer les marqueurs PK tels que la concentration plasmatique maximale (C_{max}), la concentration résiduelle (C_{min}), la concentration à l'état d'équilibre (C_{ss}), le volume apparent de distribution (V_d), l'aire sous la courbe (ASC_{0-24 h}) généralement calculée entre l'intervalle de temps 0 et 24 heures qui permettent d'apprécier qualitativement et quantitativement les différentes phases pharmacocinétiques obtenues à partir du profil des concentrations plasmatiques de l'antibiotique en fonction du temps. L'effet antibiotique (PD) est quantifié en intégrant les paramètres PK à la concentration minimale inhibitrice (CMI) spécifique de chaque bactérie.

Les antibiotiques sont classés en deux groupes par la mesure de l'effet antibiotique:

- **Les antibiotiques dits « concentration dépendant »** lorsque l'augmentation des concentrations plasmatiques entraînent une augmentation de l'effet antibiotique

-
- **Les antibiotiques dits « temps dépendant »** lorsque l'effet antibiotique dépend du temps durant lequel les concentrations plasmatiques (C_{ss}) sont supérieures à l'objectif d'efficacité nécessaire pour éradiquer la bactérie documentée.

En fonction de cette classification, des paramètres PK/PD peuvent être calculés pour optimiser la réponse antibiotique et guider le clinicien :

- **Le quotient inhibiteur (C_{max}/CMI)** Ce rapport est le paramètre le plus prédictif de l'efficacité de ces antibiotiques.
- **Le rapport aire sous la courbe des concentrations (ASC/CMI)** : n'est pas très discriminant.
- **Concentration de Prévention de Mutation (CPM)** : la plus faible concentration d'antibiotique qui prévient la pousse, in vitro.

Le dosage des antibiotiques joue un rôle prépondérant dans la stratégie de choix posologiques et de prise en charge de l'infection, suite aux modifications des paramètres pharmacocinétiques :

- L'augmentation du VD avec une baisse de la concentration des médicaments utilisés aux posologies habituelles d'où un risque de sous-dosage.
- La modification de la demi-vie d'élimination.

Les dosages sont fortement conseillés pour des molécules à marge thérapeutique étroite (aminosides et glycopeptides). Pour les autres molécules dites à marge thérapeutique plus large comme β-lactamines, les dosages sont à réaliser en fonction de l'état physiopathologique du patient (insuffisance rénale ou hépatique...).

8- Conséquences des infections nosocomiales :

Les IN peuvent avoir pour conséquences :

- Un allongement de la durée de séjour en réanimation pour le traitement de l'IN.
- Un accroissement du risque de mortalité, estimé de 12 à 80 % variable en fonction de la population étudiée et des définitions utilisées, cette mortalité reste controversée, car lorsqu'un décès survient il est difficile de distinguer entre la maladie et l'IN.

-
- Surcoût financier, on estime aux USA près de 3.5 milliard de dollars du surcoût par an liés à la prise en charge des IN.

9- Prévention des infections nosocomiales : [30]

Les stratégies globales de prévention des IN constituent un des éléments majeurs de l'amélioration de la qualité des soins pour réduire la part évitable de ces infections, elles combinent plusieurs interventions:

- Une surveillance épidémiologique.
- Programme d'éducation multidisciplinaire,
- Mesures générales : hygiène hospitalière, utilisation des antibiotiques
- Mesures spécifiques pour BLC et PAVM.

9-1- Surveillance épidémiologique :

La surveillance est une démarche interne d'évaluation pour une amélioration continue de la qualité et de la sécurité des soins. La surveillance active et rapprochée doit permettre d'identifier les cas groupés d'infection, et participer au système d'alerte en temps réel pour l'identification des risques et la mise en route des actions préventives.

9-2- Gestion des antibiotiques :

L'utilisation des antibiotiques en réanimation est essentielle pour la prévention de la résistance et l'émergence de germes résistants, elle s'inscrit dans le cadre du « bon usage des antibiotiques », elle est rendue possible par :

- La désescalade avec le passage d'un antibiotique à large spectre à un autre à spectre étroit après l'obtention des résultats microbiologiques
- La restriction de la prescription des antibiotiques avec collaboration d'un référent.
- La réduction de la durée du traitement notamment des PAVM.
- La rotation et le mélange : utilisation programmée de certains antibiotiques durant des périodes prédéterminées.
- La rationalisation et la mise en place de stratégie raisonnée (désescalade, durée, gestion des BMR) pour réduire l'émergence de résistance et le coût du traitement.

9-3- L'hygiène des mains :

C'est la mesure de base pour la prévention des IN, l'hygiène des mains par friction avec un produit hydro-alcoolique est actuellement recommandée comme méthode de substitution au lavage traditionnel. Technique simple avec application directe d'un produit contenant de l'alcool sur des mains sèches. L'efficacité de ces solutions a fait l'objet d'évaluation et les résultats sont plus que convaincants [31]

VI- Formes clinique et diagnostic des infections nosocomiales

VI-1- Les pneumopathies nosocomiales :

1- Définition : [32]

De plus en plus synonymes de pneumonies associées à la ventilation mécanique (PAVM), celles-ci ayant donné lieu à une littérature très riche, elles ne doivent pas faire oublier les autres pneumonies nosocomiales :

- Les pneumopathies nosocomiales à *Légionelles* ;
- Les pneumopathies tuberculeuses ;
- Les pneumopathies virales ;
- Les pneumopathies nosocomiales à germes usuels chez le sujet non ventilé, et le sujet en ventilation non invasive.

2-Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique PAVM :[33, 34, 35, 36, 37, 38].

Les pneumopathies sont la première cause d'infections nosocomiales en réanimation. L'incidence est variable et peut atteindre 70 %.

Les pneumopathies nosocomiales sont individualisées en deux groupes selon leur délai de survenue et leur épidémiologie : les pneumopathies nosocomiales précoces survenant avant les 5-7 jours, et les pneumopathies nosocomiales tardives rencontrées après les 5-7 e jours.

2-1 Microbiologie :[39, 40, 41, 42, 43]

Le délai d'apparition de la pneumopathie est un facteur influençant la distribution des germes responsables: les pneumopathies précoces sont dominées par *Staphylococcus aureus* sensible à l'oxacilline, *Haemophilus influenzae*, *streptococcus pneumoniae*, alors que les pneumopathies tardives sont dues aux : *Staphylococcus aureus* méthicillino-résistant, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, et les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^e génération.

La plupart des pathogènes responsables de PAVM comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et les entérobactéries se caractérisent par leur multi résistance aux antibiotiques et sont nommées bactéries multi-résistantes.

L'antibiothérapie antérieure et l'hospitalisation antérieure constituent des facteurs prédisposant à l'infection par les BMR.

Les pneumopathies nosocomiales à *Candida* sont rares chez les patients immunocompétents, l'isolement de l'*Aspergillus* suggère une contamination aéroportée des spores associé à une source environnementale.

L'isolement de *Candida* sous forme de levures ne reflète rien de plus qu'une présence saprophyte, alors que l'isolement de forme pseudo-mycélienne prouverait une atteinte pathogène. Certains *Candida* cependant, comme *Candida glabrata* par exemple, ne donnent pas de pseudo-mycélium. La recherche des antigènes constituant la levure ou des anticorps contre ces antigènes aurait une plus grande valeur diagnostique.

2-2- Morbi-mortalité :[43, 34, 44, 37].

Le risque de survenue d'une pneumopathie nosocomiale augmente avec la durée de ventilation mécanique, il passe de 6.5% à 10 jours à 69 % au 30eme jour de ventilation.

La pneumopathie nosocomiale prolonge la durée de ventilation et de séjour en réanimation, ainsi que le coût de la prise en charge, la durée de séjour est prolongé de 7 à 15 jours.

Il est difficile d'attribuer la mortalité à la seule pneumopathie, le rôle de la pathologie sous-jacente est déterminant. La mortalité brute est estimée entre 25 % et 50 %. Le risque de mortalité est 2 à 10 fois plus élevé chez les patients infectés et ventilés mécaniquement. De même la mortalité est élevée en cas d'isolement de *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter sp* et *Stenotrophomonas maltophilia*.

2-3 Facteurs de risque :

La connaissance des facteurs de risque est importante pour la mise en place des programmes de prévention efficaces, ils sont regroupés en :

2-3-1 Facteurs de risque liés au patient : [40]

L'âge, l'obésité, le sexe masculin, l'éthylisme chronique, le diabète, le statut nutritionnel altéré, l'immunosuppression, la broncho-pneumopathie chronique obstructive et les défaillances viscérales associés sont des facteurs de risque indépendants de PAVM.

2-3-2-Facteurs de risque lié à la réanimation : [45]

Plusieurs facteurs de risque liés à la réanimation ont été rapportés par différents études :

- La ventilation mécanique est le facteur majeur associé à l'émergence des pneumopathies nosocomiales.
- La sonde d'intubation favorise le passage des germes depuis l'oropharynx vers la trachée.
- Le décubitus dorsal entraîne une diminution de la capacité résiduelle fonctionnelle liée à la fermeture alvéolaire et à l'accumulation du mucus dans ces mêmes zones favorisant les infections pulmonaires, cette position favorise l'inhalation.
- La présence de sonde nasogastrique favorise le reflux gastroduodéal, ce qui augmente le risque de PN.
- Les aspirations trachéales peuvent être à l'origine d'une contamination exogène par voie manu-portée.
- Les thérapies préventives de l'ulcère de stress semblent être un facteur susceptible de favoriser la colonisation bactérienne par l'augmentation du PH gastrique.
- La prescription d'une antibiothérapie pour autre infection extra-pulmonaire reste controversée, l'usage des antibiotiques à large spectre favorise la sélection des germes multi-résistants.
- La contamination en réanimation des surfaces, des lits, et du mobilier par diverses espèces bactériennes peut être à l'origine d'une transmission horizontale par le biais des mains du personnel soignant [46].

2-4 Physiopathologie : [37, 5]

La physiopathologie repose sur trois mécanismes nécessaires : une colonisation trachéo-bronchique, la persistance des germes et une altération des mécanismes de défense.

Le passage des germes à partir des voies aériennes supérieures est la voie d'inoculation la plus fréquente. La voie hématogène ou par contiguïté à partir d'un autre foyer infectieux est rare.

L'aspiration des sécrétions oro-pharyngées reste le mécanisme d'infection le plus fréquent. Une fois l'inoculum parvenu au niveau du poumon profond, la survenue d'une infection dépend de plusieurs facteurs : importance de l'inoculum, la virulence du germe, les défenses de l'hôte à la fois locales et systémiques.

3-Critères diagnostiques des pneumopathies nosocomiales :[1,3]

➤ Signes radiologiques :

- une image évocatrice de pneumonie sur deux clichés radiologiques.
- une seule radiographie ou un seul examen scanno-graphique en l'absence d'antécédents de cardiopathie ou de maladie pulmonaire sous jacentes.

Associés :

- fièvre.
- Leucopénie ou hyperleucocytose.

Avec au moins un des signes suivants:

- Apparition de sécrétions purulentes ou modifications des caractéristiques
- Toux ou dyspnée ;
- Auscultation évocatrice ;
- Aggravation des gaz du sang

➤ Microbiologie :

Une documentation microbiologique est fortement recommandée (cas 1, 2 ou 3).

Cas 1 :

Le diagnostic bactériologique effectué par examen bactériologique protégé avec numération de microorganismes :

- Lavage broncho-alvéolaire (LBA) avec seuil supérieur à 10^4 UFC/ml,
- Brosse de Winberly avec seuil supérieur à 10^3 UFC/ml ; ou ;
- Prélèvement distal protégé (PDP) avec seuil supérieur à 10^3 UFC/ml.

Cas 2 :

Diagnostic bactériologique effectué par examen bactériologique non protégé avec numération de microorganismes : bactériologie quantitative des sécrétions bronchiques avec seuil supérieur à 10^6 UFC/ml.

Cas 3 :

Méthodes microbiologiques alternatives :

- Hémocultures positives;
- Culture positive du liquide pleural ;
- Abscès pleural ;
- Examen histologique du poumon;
- Méthodes microbiologiques alternatives modernes de diagnostics (antigénémies, antigénuries, sérologies, techniques de biologie moléculaire

Cas 4 :

Bactériologie des crachats ou examen non quantitatif des sécrétions bronchiques.

Cas 5 :

Aucun critère microbiologique

« Les cas 1, 2 et 3 correspondent aux pneumopathies certaines ou probables. Les cas 4 et 5 correspondent aux pneumonies possibles, ou même cliniques en l'absence de radiologie pulmonaire ».

4-Diagnostic des pneumopathies associées à la ventilation :

Il n'y a pas de test référence pour le diagnostic de la PAVM, son diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et bactériologiques.

Diagnostic clinique :[39, 47].

Le diagnostic pose problème, il peut être suspecté devant l'association d'une hyperthermie ($T \geq 38,3^\circ \text{C}$) ou d'une hypothermie ($T \leq 36,5^\circ \text{C}$), de la présence de sécrétions purulentes, de l'apparition d'une image radiologique anormale ou d'une aggravation des images antérieures,

d'une hyperleucocytose. Malheureusement, de nombreuses autres causes peuvent être à l'origine de cette association.

Différents scores ont été proposés pour le diagnostic clinique de la pneumopathie nosocomiale, le plus répandu et le CPIS (clinical pulmonary infection score) proposé par Pugin et al, basé sur l'évaluation de 6 paramètres (fièvre, leucocytes, aspect des aspirations trachéales, oxygénation (PaO_2/FiO_2), radiographie du thorax, culture du prélèvement et coloration de Gram) coté de 0 à 12 offrant une bonne sensibilité et spécificité diagnostique lorsqu'il est supérieur à 6 [48. 47. 45]

Diagnostic bactériologique:

Les prélèvements microbiologiques sont indispensables pour explorer la sensibilité des microorganismes en cause et ajuster l'antibiothérapie. Le choix de la stratégie bactériologique repose sur la nécessité de ne traiter que les patients qui en ont besoin.

Prélèvements trachéaux :

Ils ont l'avantage de la simplicité et du moindre coût, et ont un intérêt dans les pneumonies précoces ou lorsque les techniques endoscopiques ne sont pas possible. Mais les résultats sont discordants d'une étude à l'autre, l'association de sécrétions purulentes et de prélèvement trachéal positif ne peut refléter qu'une trachéobronchite dont le pronostic n'est pas le même que celui d'une pneumopathie nosocomiale. Le problème de l'aspiration trachéale étant de traiter des patients simplement colonisés.

Les aspirations trachéales sont toujours effectuées en premier au moyen d'un aspirateur muni d'une sonde manipulée avec une compresse stérile et introduit dans l'arbre trachéo-bronchique. Les sécrétions sont aspirées sans instillation préalable de sérum [49].

La mise en culture n'est pratiquée que pour les prélèvements contenant des bactéries à l'examen direct ou contenant moins de 10 cellules épithéliales par champ microscopique [Le Remic]. Le seuil retenu pour le diagnostic de PAV est de 10^5 Ufc/ml [47,50]

Le prélèvement protégé distal (PPD):[49. 47. 45]

Effectué sur cathéter télescopique soit par la lumière du fibroscope et sous contrôle de la vue, soit à l'aveugle. Le cathéter est inséré dans les voies aériennes jusqu'en butée, puis retiré de quelques centimètres. Le cathéter interne est avancé de 2 à 3 cm au-delà de l'orifice distal du

cathéter externe. Trois aspirations sont appliquées sur le cathéter interne au moyen d'une seringue stérile. Le cathéter interne est ensuite rétracté dans le cathéter externe évitant la contamination lors de son retrait. Après section de l'extrémité distale du cathéter externe, le cathéter interne est avancé et purgé avec 1 ml de sérum physiologique dans un récipient stérile, et le segment distal est sectionné et recueilli dans le même récipient.

La pneumopathie est défini à partir d'un seuil quantitatif $\geq 10^3$ Ufc/ml.

Prélèvements endoscopiques :

L'endoscopie permet l'accès direct aux voies aériennes inférieures et les prélèvements distaux nécessitant une procédure rigoureuse : sédation, aspiration trachéale, choix du site de prélèvement. Ils ont une meilleure sensibilité et spécificité.

Le brossage télescopique protégé:

Winberley et al ont développé une technique de brossage distale protégée fondée sur quatre principes :[51-52]

- Prélèvement sous endoscopie bronchique.
- Utilisation d'une brosse protégée pour minorer la contamination.
- Prélèvement par la brosse pour calibration (0.001 ml).
- Technique de culture quantitative.

Des dilutions sont pratiquées et ensemencées sur les milieux de culture appropriés (gélose au sang cuit, gélose au sang frais, gélose sélective pour les bacilles à Gram négatif). Le seuil retenu pour le diagnostic de PAVM est de 10^3 Ufc/ml, ce seuil permet d'expliquer certains cas de faux négatifs, et les auteurs recommandent la répétition des BTP en cas de résultat négatif avec un tableau radio-clinique évocateur [32].

Le lavage broncho-alvéolaire (LBA) :

Il est obtenu par instillation et aspiration de sérum physiologique stérile après blocage du fibroscope dans une bronche segmentaire.

Le LBA a plusieurs avantages :

- Une possibilité d'examen microscopique du culot de centrifugation,
- Un recueil d'une plus grande quantité de sécrétions et une exploration d'un territoire pulmonaire plus important,
- La recherche d'un plus grand nombre de pathogène comme les germes intracellulaires,

-
- La détection des acides nucléiques par biologie moléculaire d'un plus grand intérêt que des cultures de réalisation difficile.

La culture quantitative au seuil de 10^4 UFC/ml est considéré comme significative de PAVM.

Examen direct :

L'intérêt de l'examen direct est double : il oriente le diagnostic très précoce guidant l'antibiothérapie de première intention, il permet aussi de potentialiser les performances de l'analyse quantitative en éliminant les échantillons contaminés.

L'examen direct peut comprendre une : coloration de Gram, May-Grunwald-Giemsa, la quantification des leucocytes, des cellules squameuses ou ciliées et des cellules comportant des inclusions bactériennes.

La coloration de May-Grunwald-Giemsa offre l'avantage d'une meilleure visualisation de la morphologie cellulaire, la détection des bactéries intra cellulaire et d'un certains nombre de pathogènes fongiques tel que le *Candida*.

Cependant, la sensibilité de l'examen direct est trop basse pour être cliniquement utile notamment en cas d'antibiothérapie antérieure.

Culture :[54. 47]

Les prélèvements doivent être pratiqués avant toute antibiothérapie. Le choix entre méthode qualitative et quantitative est fonction de l'expérience locale, de la disponibilité et du coût.

Les seuils d'interprétation des résultats de culture diffèrent d'un prélèvement à l'autre :

- 1- Les cultures qualitatives des aspirations trachéales ne sont pas spécifiques pour le diagnostic des PAVM en rapport avec la fréquence des contaminations et des faux positifs. Néanmoins la valeur prédictive négative permet d'exclure le diagnostic de PAVM en particulier chez les patients sans antibiothérapie.
- 2- Les cultures quantitatives sont généralement préférées aux cultures qualitatives pour la mise en route d'une antibiothérapie. Cependant le résultat est influencé par plusieurs facteurs : le stade de l'infection, l'antibiothérapie antérieure, le délai de transport, la méthode de traitement du prélèvement.

Des dilutions sont nécessaires, et les résultats sont exprimés en unités formant colonies par millilitre (UFC/ml). Les valeurs seuils communément utilisées sont 10^3 , 10^4 , 10^5 UFC/ml pour le BTP, le LBA et les aspirations trachéales respectivement.

Mise en culture :[50]

LBA :

Après homogénéisation, le LBA est ensemencé directement avec une anse calibré de 10 µl sur une gélose au sang, une gélose au sang cuit additionné de poly-vitex (CO₂). A partir d'une dilution au 1/100 sont ensemencés, un milieu pour bacilles à Gram négatif, une gélose au sang additionnée d'acide nalidixique. Les milieux seront examinés après 24 et 48 H d'incubation. Une colonie représente 10² UFC/ml et 10⁴ UFC/ml (dilution à 10⁻²). Le seuil est 10⁴ UFC/ml pour ces prélèvements.

PPD et brossage distal protégé :

Après homogénéisation, le cathéter est ensemencé directement avec une anse calibrée de 10 µl sur une gélose au sang, un milieu pour bacilles à Gram négatif, une gélose au sang cuit additionnée de poly-vitex (CO₂). Une colonie représente 10² UFC/ml, le seuil est de 10 colonies ($\geq 10^3$ UFC/ml).

Expectoration et aspiration endotrachéale :

Les fibroaspirations seront traitées d'une manière analogue aux expectorations. Si l'aspiration est trop diluée, une centrifugation et un examen direct seront effectués sur le culot qui sera traité comme une expectoration.

Le nombre de leucocytes /champ et le nombre de cellules épithéliales/champ est déterminé et permet de ne pas poursuivre l'analyse bactériologique.

Après homogénéisation des sécrétions et du fluidifiant. Une dilution à 10⁻⁴ (2 dilutions successives de 0,1 ml dans 10 ml eau distillée) ou une dilution à 10⁻³ en eau distillée (10µl dans 10 ml) est ensemencée dans à l'aide d'une anse calibrée de 10 µl sur une gélose au sang en aérobiose, un milieu pour bacilles à Gram négatif (BCP, Mac Conkey) et une gélose au sang additionné de poly-vitex (CO₂) avec ou sans bacitracine.

Les milieux sont examinés après 24 à 48 H d'incubation, une colonie représente 10⁵ UFC/ml (dilution à 10⁻³) ou 10⁶ UFC/ml (dilution à 10⁻⁴). Le seuil de significativité est de 10⁷ UFC/ml pour ces prélèvements.

Autres prélèvements bactériologiques :

Les hémocultures et la culture du prélèvement pleural en cas d'épanchement sont d'une aide insuffisante pour le diagnostic des PAVM, néanmoins les experts recommandent toujours de réaliser des hémocultures avant la prescription d'une antibiothérapie [45, 55]

Marqueurs biologiques :

L'objectif de ces marqueurs est l'aide au diagnostic précoce, en attendant les résultats des prélèvements microbiologiques :

- 1- La pro-calcitonine (PCT) est un bio-marqueur proposée en infectiologie, notamment respiratoire. L'endotoxine bactérienne et les bactéries sont capables d'induire la libération systémique de la PCT. Son dosage permet de différencier l'infection bactérienne d'une cause inflammatoire non infectieuse [56]. Son intérêt résiderait davantage comme marqueur évolutif des PAVM, un taux de PCT restant élevé de J1 à J7 apparaissant prédictif d'un mauvais pronostic [57].
- 2- Le TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells) est une immunoglobuline dont l'expression est stimulée par les dérivés microbiens. Sa production semble indépendante de stimuli inflammatoires non infectieux, le dosage de sa forme soluble dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire semble intéressant dans le diagnostic des pneumopathies bactériennes [58].
- 3- C-réactive protéine a un intérêt diagnostique et pronostic sur la gravité de l'infection [54].
- 4- L'endotoxine peut être un indicateur dans la prédiction de la numération bactérienne importante dans le liquide de LBA. [59]

5- Les pneumopathies nosocomiales virales : [60, 47]

L'incidence des pneumopathies virales nosocomiales est mal connue. La difficulté diagnostique en l'absence de signes spécifiques par rapport aux pneumopathies bactériennes, la difficulté d'identification des virus rendent le diagnostic malaisé. Au vu du nombre de pneumopathies nosocomiales qui restent sans diagnostic étiologique, il paraît raisonnable de penser à l'origine virale

Les virus en cause sont multiples : virus influenzae A et B, virus respiratoire syncytial, les adénovirus, virus herpès simplex. La transmission est aéroportée ou manu-portée, et l'origine peut être un membre du personnel, ou un autre patient, voire un visiteur

3-Traitement des pneumopathies nosocomiales :[47,45].

Le traitement des pneumopathies nosocomiales est compliqué par l'influence de trois facteurs : les nouveaux agents antibactériens, la résistance bactérienne et le rapport coût-efficacité des thérapeutiques utilisées par les cliniciens.

Le consensus de l'American Thoracic Society (ATS) propose d'instaurer une double antibiothérapie probabiliste à large spectre si facteurs de risque faisant suspecter des BMR. La voie d'administration recommandée est la voie intraveineuse relayée par la voie entérale si la réponse au traitement est satisfaisante.

Les instillations trachéales ou les aérosols d'antibiotiques ne sont pas indiqués à titre curatif, néanmoins il y a possibilité de les utiliser comme traitement complémentaire en cas de bacilles à Gram négatif multi-résistants. Après le début du traitement, il est nécessaire d'effectuer une évaluation clinique à la réponse au traitement, et une désescalade antibiotique est indispensable dès que l'antibiogramme est connu. Il est aussi nécessaire de savoir arrêter une antibiothérapie rendue inutile par la négativation des prélèvements bactériologiques.

Le traitement de quatre BMR mérite une discussion :[47]

- 1- Le *Pseudomonas aeruginosa* : la rapidité d'émergence de souche résistante justifie le recours à une poly-chimiothérapie antibactérienne.
- 2- *Acinetobacter sp* : les antibiotiques les plus actifs restent les carbapénèmes, la colistine et les polymyxines.
- 3- Entérobactéries productrices de BLSE : l'utilisation des céphalosporines de 4^{ème} génération telle cefepime est controversée en cas de suspicion d'infection par une entérobactérie BLSE+, de même que l'utilisation de piperacilline-tazobactam dont l'efficacité reste incertaine contre ces souches. Les carbapénèmes restent le traitement de choix.
- 4- *Staphylococcus aureus methicillino-résistant* : le linezolid est une alternative à la vancomycine pour le traitement des infections à MRSA.

5-Prévention

Mesures générales :

Les mesures générales reconnues pour limiter les PAVM :

- L'hygiène des mains avant les soins,

-
- L'isolement des patients porteurs de BMR,
 - L'utilisation préférentielle de la ventilation non invasive,
 - La position proclive de 30 à 45°.

Décontamination buccale et digestive sélective:

L'approche alternative pour réduire les PAVM est la modulation de la colonisation des voies respiratoires supérieures et du tube digestif par antibiothérapie sous forme de pâte ou gel sans utiliser les dispositifs spécifiques [61].

La décontamination digestive spécifique n'est pas recommandée en routine en continu dans les populations générales en réanimation [62].

Gestion des antibiotiques :[63]

La gestion des antibiotiques est extrêmement importante dans l'effort global de contrôle des infections, il semble logique qu'une utilisation rationnelle des antibiotiques suivant des protocoles fondés sur les recommandations établies pour prévenir l'apparition des infections à germes multi-résistants.

L'antibiothérapie tournante (cycling ou crop rotation) qui consiste au changement de l'antibiothérapie de première intention a été proposée pour réduire la fréquence des germes résistants.

Positionnement du patient :[64]

La position proclive entre 30° et 45° est la principale et la seule mesure recommandée.

Les aspirations des sécrétions oro-pharyngées : [62]

L'aspiration des sécrétions oro-pharyngées pour éviter les micro-inhalations de sécrétions contaminées a été proposé par certains auteurs comme moyen de prévention

VI-2 Les infections urinaires :

La place des infections urinaires (IU) parmi les infections nosocomiales en réanimation est variable en fonction des études [65, 66, 67]. Elle est souvent asymptomatique, survenant presque exclusivement chez un malade sondé, exposant relativement rarement à des complications locales et/ ou générales sévères.

L'IU peut être aussi à l'origine d'un état septique grave motivant le séjour en réanimation et s'accompagnant d'une morbidité et d'une mortalité non négligeable.

L'IU est définie par la multiplication microbienne au sein des voies urinaires, associée à une réaction inflammatoire locale. Les bactéries et les cellules de l'inflammation se retrouvent dans les urines qui sont normalement stériles et témoignent alors d'un processus infectieux.

Chez les patients avec cathétérisme vésical, chez qui l'infection est souvent asymptomatique, toute présence de bactériurie dans les urines est pathologique. Le seuil de détection est à 10^2 UFC/ml dans la plupart des laboratoires. La leucocyturie, présente dans 80 à 90 % des cas n'est pas indispensable au diagnostic [68].

Deux tests biologiques sont importants pour aider à établir le diagnostic d'infection des voies urinaires : le dénombrement des bactéries et des leucocytes dans les urines.[68].

1-Epidémiologie :

L'incidence des infections urinaires nosocomiales (IUN) en réanimation est élevée, avec néanmoins des taux variable selon ;

- L'efficacité des mesures de prévention.
- Les critères diagnostiques utilisés.
- Le type de recrutement des populations étudiées avec en particulier des durées de séjour très différentes ;
- L'importance de l'utilisation des antibiotiques en relation avec le type de pathologie prise en charge.

Le sondage des voies urinaires est habituel en réanimation et concerne souvent la presque totalité du séjour. Les malades y entrent déjà sondés. 95% des IU sont associées au sondage des voies urinaires [65].

Les résultats duprogramme de Surveillance du NNIS aux états unis montrent un taux d'exposition au sondage entre 0,69 et 0,81 selon le type de service de réanimation.

En France, le réseau de surveillance des IN en réanimation Réa-Raisin relève qu'en 2010, 87 % des patients ont été porteurs de sondes avec un REDI 84.2 %.

La prévalence des IU varie entre la première place avec 31 % en réanimation médicale aux états unis, avant les pneumopathies et les bactériémies et la troisième place avec 17,6 % dans

l'étude européenne EPIC. Le taux d'incidence en fonction de la présence d'une sonde urinaire se situe entre 8,5 et 11,3 pour 1000 jours de sondage.

2-Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales :[69]

Les défenses naturelles de l'homme sont multiples:

- Le tractus urinaire est stérile en dehors de la partie terminale de l'urètre.
- La flore saprophyte notamment génitale est un maillon important de la défense antibactérienne. Cette flore est remplacé après 07 jours d'hospitalisation par une flore hospitalière ou prédominant levures et bacilles à Gram négatif.
- La miction permet d'éliminer la quasi-totalité des microorganismes qui ont pénétré le tractus urinaire et dépose un film bactéricide et stérile sur la paroi vésicale.
- Le mucus vésical est bactéricide grâce à une immunité humorale.
- Les protéines de Tamm-Horsfall recouvrent l'épithélium vésical et diminuent l'adhérence bactérienne.
- Le sacrifice de la cellule épithéliale pour rejeter la cellule bactérienne dans la cavité vésicale ou l'ensemble sera phagocyté par les polynucléaires neutrophiles.

L'infection urinaire nosocomiale résulte d'un déséquilibre entre les défenses naturelles de l'hôte et le pouvoir pathogène des agents infectieux, la cathétérisation des voies urinaires entraîne la colonisation des sites stériles, de microlésions de la muqueuse urétrale et permet ainsi la survenue d'IUN.

Quatre modes d'acquisition des IUN sous sonde ont été décrits :

- L'acquisition lors de la mise en place de la sonde. Les bactéries colonisant le périnée et l'urètre peuvent être introduites directement dans la vessie lors du sondage [70]. Maki qualifie cette voie d'extra-luminale précoce à l'insertion par opposition à extra-luminale tardive par action capillaire [71].
- L'acquisition par voie endoluminale, était dominante avec le système ouvert. Les systèmes clos ont apporté une diminution drastique des infections d'origine endoluminale, celles-ci restent évidemment possibles, en particulier en cas de faute d'asepsie. Pour les deux types de dispositifs la durée de sondage est le principal facteur de risque de développement d'une IUN/S.

-
- L'acquisition par voie extraluminale ou péri-urétrale ; qui implique des bactéries d'origine digestive qui colonise le méat, puis migrent progressivement vers l'urètre et la vessie par capillarité dans le film muqueux à la surface externe de la sonde.
 - L'acquisition par voie lymphatique ou hématogène,

3- facteurs de risques :[69, 72]

Plusieurs études prospectives ont identifié des facteurs de risque indépendants d'infection urinaire nosocomiale, mais peu de facteurs sont véritablement spécifiques à la réanimation. Classiquement dans plusieurs études le sexe féminin, l'âge et surtout la durée de sondage ou de séjour qui sont en fait proche l'une de l'autre sont retrouvés. chaque jour de sondage multiplie le risque de développer une infection urinaire sur sonde

En réanimation médicale, une durée de séjour supérieur à 11 j fait apparaître un OR de faire une IU de 19,4. La notion de sexe féminin donne un OR de 5.

L'antibiothérapie préalable pour une autre infection s'accompagne d'un effet protecteur de la survenue d'une IU. Cet effet réducteur des antibiotiques peut expliquer des taux variables, le suivi des taux d'IU n'est pas un marqueur fiable de bonne qualité des soins. Une bactériurie peut être transitoirement négative si l'examen est pratiqué sous antibiothérapie [73].

En ce qui concerne les infections fongiques, des facteurs de risque particuliers qui sont retenus : diabète, sonde à demeure, antibiothérapie à large spectre [68].

Il existe plusieurs types de germes responsables d'IUN :

- Les entérobactéries avec *E.coli* en chef de file.
- *Pseudomonas aeruginosa* qui se multiplie à la surface des cathéters en utilisant des adhésines.

En terme de fréquence, la plupart des séries retrouvent : *E coli*, *Enterococcus sp*, *Candida sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa* [Parneix P. 1995, 68, 74].

4-Critères de diagnostic des infections urinaires nosocomiales

❖ **Pour les experts européens : [3].**

L'infection urinaire est définie par la présence d'au moins un des signes suivants : fièvre, impériosité mictionnelle, pollakiurie, brûlure mictionnelle, douleur sus pubienne en l'absence d'autre cause, infectieuses ou non, avec :

- Sans sondage vésical ni autre abord de l'arbre urinaire : leucocyturie ($\geq 10^4$ UFC/ml) et uroculture positive ($\geq 10^3$ microorganismes/ml) et au plus deux microorganismes différents ;
- Avec sondage vésical ou autre abord de l'arbre urinaire, en cours ou dans les sept jours précédents : uroculture positive ($\geq 10^3$ microorganismes/ml) et au plus deux microorganismes différents.

❖ **Pour le CDC:**

Les critères de définition d'une infection urinaire nosocomiale :

- Patient sondé dans les sept jours précédant le prélèvement : ECBU avec micro-organisme $> 10^5$ Ufc/ml avec deux espèces bactériennes au plus.
- Patient non sondé : deux ECBU successifs contenant le même germe $> 10^5$ UFC/ml avec deux espèces bactériennes au plus.
- Fièvre sans autre origine et/ou envies impérieuses et/ou pollakiurie et/ou tension sus pubienne, et ECBU germe unique $> 10^5$ UFC/ml avec deux espèces bactériennes au plus ou ECBU $> 10^3$ UFC/ml et leucocyturie 10^4 /ml.

5-Aspects diagnostics :

On distingue des critères cliniques, épidémiologiques, inflammatoires et microbiologiques. Le laboratoire de microbiologie est à même de contribuer au diagnostic d'infection urinaire en argumentant les deux derniers facteurs [75]

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU), est l'examen de choix, susceptible de confirmer l'infection urinaire alors que les signes cliniques ou les tests rapides de dépistage ont seulement une valeur présomptive et peuvent se trouver en défaut dans de nombreuses situations[75].

L'ECBU permet:[75]

- La quantification des leucocytes.
- La quantification des microorganismes (bactériurie et candidurie).

5-1-Conditions de recueil, de conservation et de transport des urines :

L'objectif majeur est de recueillir l'urine vésicale normalement stérile en évitant sa contamination lors de la miction par la flore commensale qui colonise l'urètre et la région périnéale [50].

Plusieurs modes de recueil des urines existent:

1. Chez un patient non sondé : Urine au milieu de la miction, technique classique recommandée lorsqu'elle est possible afin d'éliminer les bactéries commensales de l'urètre. Le recueil des urines en début de jet est utilisé pour le diagnostic des urétrites à germes intracellulaires.
Il est important de nettoyer la vulve ou le gland avec de l'eau stérile et pas avec un savon inhibiteur pour les bactéries.
2. Ponction sus pubienne: permet le recueil des bactéries directement au site de l'infection en éliminant les contaminations.
3. Sondage à demeure : les urines ne doivent pas être recueillies à partir de la poche, mais par ponction après désinfection de la tubulure en amont de la poche.

5-2-Test des bandelettes:[76, 77, 78]

Des tests rapides permettent de réaliser un criblage instantané pour la recherche au lit du malade des stigmates biologiques d'une infection urinaire. Ces tests nécessitent des urines fraîchement émises. Le temps de lecture des bandelettes réactives est de 2 minutes pour la recherche des leucocytes et 30 secondes pour la détection de l'activité nitrate réductase.

L'utilisation des bandelettes réactives pour le dépistage des IU en réanimation doit se faire avec vigilance. De nombreux germes en cause en réanimation n'ont pas d'activité réductrice des nitrates (*Staphylocoque*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterocoque*, *Levures*). Le seuil de détection de la leucocyturie est de l'ordre de 10 leucocytes/mm soit 10^4 /ml.

La sensibilité de ce test est comprise entre 82-95 %, sa spécificité entre 55-94 %, la valeur prédictive positive est comprise entre 40-51 % et la valeur prédictive négative entre 81-96 %.

Le seuil de détection de l'activité nitrate réductase est de 10^5 UFC/ml, la sensibilité est de 33-63 %, une spécificité de 48-96 %. La valeur prédictive positive 51-68 % et la valeur prédictive négative 81-90 %.

5-3- Examen cytbactériologique ECBU: [50, 76]

La difficulté est de discerner :

- La contamination lors du prélèvement.
- La colonisation bactérienne ou mycotique de la vessie surtout de la sonde urinaire sur la surface de laquelle se crée ce biofilm riche en micro-organismes qui vont positiver les prélèvements sans réelle infection.
- Une infection urinaire avec atteinte de la muqueuse vésicale et risque infectieux ascendant.

En règle générale, l'isolement de plusieurs types de micro-organismes oriente vers une contamination ou une colonisation mais cela est moins affirmatif avec le patient sondé.

Il est classique de considérer qu'une culture avec 10^5 UFC/ml est significative d'infection urinaire, en dessous de ce seuil la contamination du prélèvement est possible.

Néanmoins il est possible d'avoir une infection avec un taux $\square 10^5$ UFC/ml, chez un malade sondé une bactériurie nettement inférieure à 10^5 UFC/ml progresserait rapidement et dépasserait le seuil de 10^5 UFC/ml en 3 jours en l'absence de traitement antibiotique.

La décision thérapeutique prend en compte le contexte clinique, la répétition de la positivité des examens et leur évolution vers un accroissement quantitatif.

5-3-1-Examen macroscopique :

Les urines sont jaunes claires et limpides, des urines troubles suggère une infection mais n'est pas un signe pathognomonique. L'examen macroscopique permet d'apprécier la limpidité des urines et éventuellement une hématurie.

5-3-2- Examen microscopique :

➤ Leucocyturie :

L'examen à l'état frais en cellule Malassez ou en Nageotte permet une numération des leucocytes et des hématies sur des urines homogénéisées.

Le résultat est exprimé en mm^3 ou en ml, et les taux de détection est de l'ordre de 10 leucocytes/ mm^3 soit $10^4/\text{ml}$. Ce test ne doit pas être mis en œuvre chez un patient sondé ou ayant une vessie neurologique en raison d'une leucocyturie chronique.

La valeur prédictive positive VPP de ce test est de 40-51 % et la valeur prédictive négative VPN est de 81-96 %, avec une sensibilité de 82-95 % et une spécificité de 55-94 %.

➤ **Examen direct après coloration :**

La coloration de Gram d'une goutte d'urine non centrifugée ou du culot reste indispensable pour apporter des informations immédiates sur le type de bactérie impliquée ou la présence de levures afin d'adapter le traitement. Son seuil de détection est de $5 \cdot 10^4/\text{ml}$

Son intérêt réside particulièrement dans les infections nosocomiales ou les IU à bandelettes urinaires négatives pour les nitrites

➤ **Autres éléments cellulaires :**

La recherche des autres éléments cellulaires se fait à partir d'urine fraîchement émises (moins de 2 heures). Pour certaines pathologies, il est utile de reconnaître et de quantifier les hématies et les cylindres. La présence de cylindres granuleux, hématiques, leucocytaires ou cireux doit être signalée et confrontée avec la clinique. En complément de résultat, les cristaux urinaires peuvent être identifiés et semi-quantifiés. Ceux-ci sont physiologiquement présents dans l'urine. Seuls, les cristaux de cystine et une quantité abondante de cristaux d'acide urique sont anormaux.

5-3-3 Culture :

5-3-3-1-Choix des milieux :

➤ **Milieux non chromogènes :**

La majorité des bactéries incriminées dans les infections urinaires ne sont pas exigeantes et sont cultivées sur géloses ordinaires. Un milieu Hecktoen ou milieu enrichi peut être utilisé en fonction du patient ou de l'examen direct.

➤ **Milieux chromogènes :**

Le principe du milieu chromogène est d'utiliser des substrats synthétiques qui sont des analogues structuraux d'une molécule naturellement clivée par une enzyme caractéristique d'une espèce bactérienne. Le substrat clivé acquiert des propriétés chromogéniques et précipite en colorant la colonie sans diffuser dans la gélose. Ces milieux permettent une

discrimination plus fine des colonies et une meilleure sensibilité de détection des urines polymicrobiennes.

5-3-3-2-Ensemencement :

L'ensemencement doit répondre au double objectif : l'isolement et le dénombrement bactérien.

- **Méthode originale de Kass :** Faire des dilutions en série de 10 en 10. Un volume connu de chaque dilution est étalé sur une boîte de pétri.
- **Méthode simplifiée de Veron :** diluer l'urine au 1/100 en eau distillée stérile. Puis faire l'étalement de 0,1 ml de cette dilution. Une colonie correspond à 1000 bactéries.
- **Méthode de l'anse calibrée :** La plus utilisée, à l'aide d'une anse de 10 µl, l'urine est prélevée et ensemencée. Cette méthode permet un dénombrement en UFC par millilitre.
- **Méthode de la lame immergée :** On plonge l'urine dans une lame portant des milieux nutritifs, généralement Mac Conkey. Elle permet l'ensemencement des urines au lit du malade mais le désavantage de ne pas obtenir des colonies isolées pour des concentrations de 10⁶ bactéries par ml d'où la nécessité de réensemencer les urines.
- **Appareils et méthodes automatiques :** Il existe différents automates permettant de cribler les urines et de déterminer les urines à ensemer. Différentes technologies ont été développées mais ont l'inconvénient d'être chers à l'achat et ne peuvent être utilisés que par des laboratoires traitant plusieurs centaines d'échantillons par jour. Les échantillons positifs doivent être secondairement ensemencés.

5-3-3-3-Incubation des uroculture :

La majorité des bactéries des infections urinaires poussent en 18 à 24 heures et en dehors de contexte particulier il n'y a pas lieu de prolonger l'incubation. Dans certains cas, bactéries exigeantes, déficientes ou culture négative, il faut savoir modifier le milieu de culture, l'atmosphère et prolonger l'incubation.

5-3-3-4-Interprétation des uroculture :

L'interprétation des urocultures dépend de quatre paramètres : la bactériurie quantitative, la leucocyturie quantitative, les symptômes urinaires et la pathogénicité des souches isolées.

Les bactéries susceptibles d'être isolées au cours d'une infection urinaire ont été classées en quatre groupes :

❖ **Groupe I :**

Les bactéries avec pouvoir uro-pathogène même en faible quantité ($\geq 10^3$ UFC/ml) :

- *E coli*
- *Staphylococcus saprophyticus*.
- *Salmonella* (rare).
- *Mycobactéries* (rare).

❖ **Groupe II :**

Ces bactéries sont moins fréquemment responsables d'infection urinaire, le plus souvent d'origine nosocomiale :

- Les entérobactéries (*Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Enterobacter sp*)
- *Enterococcus sp*.
- *Pseudomonas aeruginosa*,
- *Corynebacterium urealyticum*,
- *Haemophilus influenzae*,
- *Streptococcus pneumoniae* (rare).

❖ **Groupe III :**

Leur implication exige un niveau de bactériurie élevé ($\geq 10^5$ UFC/ml), une répétition de leur positivité sur au moins deux échantillons, des critères cliniques ou d'inflammation. Ces bactéries ne doivent être prises en compte que si elles sont détectées par aspiration sus pubienne :

- *Streptococcus agalactiae*,
- *Candida sp*,
- Les staphylococcus à coagulase négative,
- *Acinetobacter baumannii*,
- *Burkholderia cepacia*,
- *Oligella urethralis*,
- *Aerococcus urinae*.

❖ **Groupe IV :**

Bactéries de la flore uretrale ou génitale :

- *Streptococcus alpha hémolytique*,
- *Gardnerella vaginalis*,
- *Lactobacillus sp*,
- *Bacilles corynéformes*.

Tableau n°1 : critères d'interprétation d'un ECBU chez un patient sondé[78].

Urines obtenues chez un patient sondé				
Symptômes	Leucocytes	Dénombrement	Nombre d'espèce	antibiogramme
+ ou patients sondés en situation pré-opératoire de chirurgie urologique	La détermination de la leucyturie est sans intérêt chez le patient sondé	$\leq 10^4$	≥ 1	Non
		$\geq 10^5$	≥ 1	Oui*
$\leq 10^4$		≤ 2	Non	
		1	Oui	
Pas de signes cliniques ou situation clinique non documentée	$\geq 10^5$	≥ 2	Non	

* : si 3 espèces ne prendre que les bacilles à Gram négatif avec numération $\geq 10^4$

Les IU à *Candida*

Le diagnostic des IU à *Candida* mérite une discussion particulière. En effet, la découverte de levures dans les urines peut être le témoin d'une contamination, d'une simple colonisation ou du premier signe d'une infection invasive[79]. Il faut d'abord tenter d'éliminer une colonisation de la sonde, voire de la vessie pour affirmer une IU à *Candida*[80].

L'isolement de *Candida* sous forme de levures ne reflète rien de plus qu'une présence saprophyte, alors que l'isolement de forme pseudo-mycélienne prouverait une atteinte pathogène. Certains *Candida* cependant, comme *Candida glabrata* par exemple, ne donnent pas de pseudo-mycélium. La recherche des antigènes constituant la levure ou des anticorps contre ces antigènes aurait une plus grande valeur diagnostique[81].

Un nouveau prélèvement pourra être pratiqué immédiatement après un changement de sonde.

Il faudra analyser l'existence d'une candidurie dans un contexte général avec éventuellement la colonisation de plusieurs sites et leur signification dans le diagnostic d'une candidose invasive. [76].

6 - Traitement :

La décision et les modalités thérapeutiques dépendent à la fois de critères biologiques et du contexte clinique. Il repose sur la prescription d'antibiotique par voie générale.

Il importe surtout de choisir les antibiotiques en fonction des données bactériologiques et leur administration en fonction des caractéristiques pharmacocinétiques, avec une élimination urinaire.

7 - Prévention : [67]

7-1- Le sondage :

- Le sondage urinaire est une prescription médicale, qui en pratique fait l'objet trop souvent d'une mise en place systématique. L'indication du sondage urinaire doit être réévaluée quotidiennement et l'ablation doit être le plus précoce possible.
- L'alternative au sondage est possible : étui pénien chez l'homme, et le cathétérisme sus pubien qui reste peu utilisé en raison de la charge de travail et la nécessaire disponibilité d'un médecin pour réaliser cette technique.
- La pose de la sonde urinaire est bien codifiée et a fait l'objet de protocole écrit, le respect de l'asepsie est fondamental après une toilette urogénitale réalisée avec des gants et une solution antiseptique, la pose de la sonde se fait dans des conditions d'asepsie de type chirurgical.

7-2- Matériel :

- Les sondes en silicone sont indiquées lorsque la durée du sondage est probablement supérieure à 7 jours
- Quel que soit le matériau, le calibre de la sonde doit être le plus faible possible pour éviter les lésions urétrales.
- Les sondes induites d'antibiotiques ou antiseptiques ont été évaluées par des essais cliniques, et il semble qu'il y a un intérêt à leur usage pour la prévention des IUN. L'inconvénient de l'utilisation de ces sondes reste le surcoût engendré

-
- Les systèmes closexistent dans toutes les réanimations, et il est probable que le système clos reste la meilleure méthode de prévention dans un service de réanimation ou la qualité de prévention est incertaine.

7-3- Soins journaliers :

- Utilisation journalière d'antiseptique ou d'antibiotique pour la toilette méatale n'a pas montré de supériorité par rapport à l'utilisation du savon et de l'eau.
- L'instillation intravésicale prophylactique d'antibiotique ou d'antiseptique, les lavages de vessie, la mise d'antiseptiques dans le sac collecteur ne présentent pas d'intérêt.
- La fixation et la vidange décline du sac collecteur, la toilette quotidienne au savon du périnée et l'antisepsie du site de jonction en cas de prélèvement sont des mesures utiles.

7-4- Changement systématique de la sonde :

L'intérêt du changement systématique de la sonde n'est pas connu.

7-5- Antibio prophylaxie :

L'antibio prophylaxie est l'administration d'antibiotiques au long cours dans le but de prévenir une infection urinaire liée à un cathéter. Mais du fait de l'émergence de résistance cette attitude prophylactique ne peut être recommandée sauf pour des populations ciblées particulièrement à risque d'infection.

VI-3- Les infections liées aux cathéters :[82].

Les cathéters veineux centraux (CVC) sont fréquemment utilisés en réanimation et concernent 48 % des journées d'hospitalisation. Les infections liées aux cathéters représentent la troisième cause d'infections nosocomiales et la principale cause de bactériémies nosocomiales

1 - Définition : [83]

L'infection liée au CVC est définie par la présence de micro-organismes à la surface interne/externe du CVC responsable d'une infection locale et/ou générale. Elles sont définies généralement en trois types :

- Les colonisations, ont un intérêt épidémiologique sans aucune pertinence clinique.
- Les infections cliniques non bactériémiques locales ou générales.
- Les bactériémies qui font la gravité de ces infections, une différence existe quand à la définition, le CDC la définit comme bactériémie primaire (catheter associated bloodstream infection) par absence de porte d'entrée chez un porteur de cathéter, alors

que pour le C-CLIN Sud-Est France il s'agit de bactériémie liée au cathéter (catheter-related bloodstream infection) ou le germe doit être identique sur le cathéter et dans le sang.

2- Epidémiologie : [83]

L'ILC est la troisième cause d'infection nosocomiale en réanimation médicale et la quatrième cause en réanimation chirurgicale. Les dispositifs intra-vasculaires peuvent être responsables jusqu'à 30 % des bactériémies nosocomiales. L'incidence des BLC est variable d'un pays à l'autre et d'une réanimation à l'autre, elle est plus basse dans les pays industrialisés comparées aux pays en développement. Le NNIS rapporte dans son rapport de 2007 une densité d'incidence de 2.2 épisodes /1000 jours de cathéter pour la réanimation médicale, la densité d'incidence des BLC est 4.3 /1000 jours-cathéter en Colombie [84]

3- Facteurs de risque : [85, 86]

Les facteurs de risque peuvent être classés en 03 groupes :

- Facteurs liés aux patients : Le sexe masculin, l'immunodépression, la dénutrition.
- Facteurs liés à la pose : Les matériaux du cathéter, les sites d'insertion, les techniques de pose et l'expérience de l'opérateur.
- Facteurs de risque liés à l'utilisation : la fréquence des manipulations de la ligne veineuse, les types de solutés perfusés (PH, composition), la durée de cathétérisme.

4- Physiopathologie : [82, 86, 87]

Les deux voies principales de colonisation des cathéters sont la voie endo-luminale et la voie exo-luminale, après insertion du cathéter dans l'organisme, débute la constitution du biofilm à l'origine d'infections locales et/ou systémiques.

- La colonisation exo-luminale ou de la face externe du cathéter se fait à partir de son point d'entrée cutané, et constitue la voie de contamination la plus habituelle.
- La colonisation intra-luminale du cathéter après introduction de micro-organismes à partir du connecteur lors de manipulation (injection ou préparation injectable contaminée).
- La colonisation par voie hématogène plus rare, est secondaire à la colonisation du cathéter suite à une bactériémie secondaire à un foyer infectieux à distance (urinaire, pulmonaire, digestive, ou autre).

La voie endo-luminale concerne surtout les cathéters de courte durée (≤ 10 jours), alors que la voie extra-luminale concerne les cathéters de longue durée (> 10 jours), en réanimation la large majorité concerne les cathéters de longue durée.

5- Microbiologie :[82, 86, 87]

La colonisation de la voie veineuse à partir de son site d'insertion ou des mains du personnel soignant sont les mécanismes les plus fréquents, et les micro-organismes les plus fréquemment impliqués dans les BLC en réanimation sont les cocci à Gram positif essentiellement les bactéries de la flore cutanée, à savoir les Staphylocoques à coagulase négative, les entérobactéries 28 % et *Pseudomonas aeruginosa* 13%.

Ces dernières années ont été marquées par l'émergence de *Candida* en raison de la gravité des patients. En France la colonisation des cathéters à *Candida* sp est relativement peu fréquente (1 à 3 %) alors qu'aux Etats Unis elles représentent 12.2 %.

6- Morbidité, mortalité :

Les complications liées aux cathéters vasculaires peuvent avoir parfois des conséquences majeures, outre les infections locales ou systémiques potentiellement sévères, ces gestes peuvent s'accompagner de complications mécaniques à type de pneumothorax, un trajet aberrant, et migration. Ainsi la fréquence des complications du cathétérisme central concernerait plus de 15 % des patients [86].

Les BLC sont associées à une augmentation du risque de décès en réanimation estimée entre 4 et 20 % et d'une prolongation de la durée de séjour de 5 à 20 jours [82, 83]. De même qu'un surcoût estimé entre 3000 \$ et 40000 \$ par épisode de bactériémie.

7- Critères diagnostiques :[3]

La confrontation des données cliniques et bactériologiques permet d'indiquer :

- En absence de bactériémie, le diagnostic d'ILC repose sur :
 - Culture positive de CVC $\geq 10^3$ Ufc/ml, avec :
 - Régression totale ou partielle des signes infectieux dans les 48 H suivant l'ablation.
 - Purulence de l'orifice d'entrée du cathéter.
- Infection bactériémique liée au CVC est définie par :

-
- Association d'une bactériémie survenant dans les 48 h encadrant le retrait du CVC :
 - o Culture positive du site d'insertion au même germe.
 - o Culture positive du CVC $\geq 10^3$ Ufc/ml du même germe.
 - o Rapport hémoculture quantitative centrale/hémoculture périphérique ≥ 5 .
 - o Un délai différentiel de positivité des hémocultures ≥ 2 h.
 - L'infection n'est pas liée au CVC :
 - Le CVC est stérile.
 - La culture du CVC est positive mais la souche est différente de celle isolée dans le sang et/ou dans foyer infectieux présent au moment de l'ablation du CVC et le syndrome infectieux ne régresse pas à l'ablation du CVC
 - La culture du CVC est positive. La souche isolée identique à celle trouvée dans un foyer infectieux autre identifié au moins 48 h avant l'ablation du CVC qu'il soit ou non responsable de bactériémie, et le syndrome infectieux ne régresse pas à l'ablation du CVC : celui-ci a été colonisé à partir d'un foyer situé à distance.

8-Diagnostic clinique : [87]

Le diagnostic clinique d'une ILC est difficile, et les signes cliniques n'ont rien de bien spécifique, et la possibilité d'une infection de cathéter est envisagée chez tout malade fébrile sans cause évidente et porteur d'un cathéter intraveineux. Deux tableaux cliniques peuvent être observés :

8-1-L'infection liée au cathéter et /ou de son trajet sous cutané :

Seuls les signes locaux indiquent une ILC, avec absence des signes systémiques. Les signes locaux peuvent être francs avec une thrombophlébite cliniquement visible, accompagnée de signes d'inflammation autour du point d'entrée du cathéter et le long du trajet veineux. Cependant ces signes sont non spécifiques, parfois une suppuration locale au point d'entrée du cathéter.

Les infections compliquant les cathétérismes veineux centraux ou artériels sont moins parlantes du fait du trajet vasculaire profond, et seule la suppuration franche du point d'entrée permet une certitude diagnostique.

8-2-L'infection liée au cathéter à diffusion systémique :

Les signes de septicémie sont au premier plan, et les signes locaux doivent être recherchés pour leur rattacher le syndrome infectieux qui est le témoin de la diffusion systémique de l'infection. Ces signes sont non spécifiques avec une fièvre, une tachycardie, un syndrome septique, et leur association avec des signes locaux notamment la suppuration rend le diagnostic très probable.

9- Diagnostic microbiologique : [88]

L'apport de la microbiologie est indispensable pour documenter l'implication du cathéter dans l'infection. Nombreuses techniques peuvent être employées, et on décrit deux grands groupes avec ablation ou non du cathéter.

9-1- Conditions de prélèvement :

La formation d'un professionnel aux conditions de prélèvement est recommandée par certains auteurs vus les risques de contamination des prélèvements et la difficulté pour distinguer entre une infection, une colonisation et une contamination.

- La préparation de la peau du patient avant le prélèvement des hémocultures par ponction veineuse périphérique doit être réalisée en 4 temps : déterision au savon, rinçage au sérum physiologique, séchage, application d'un antiseptique alcoolique en respectant le temps de contact, sans oublier de désinfecter le bouchon des flacons d'hémocultures.
- Avant le prélèvement des hémocultures sur un cathéter vasculaire, il est souhaitable d'éliminer par une purge le volume jusqu'au premier raccord pour ne recueillir que le contenu du cathéter.
- Ecouvillonnage du site d'insertion du cathéter après ablation du pansement.
- L'ablation du cathéter doit se faire stérilement, et l'extrémité distale coupée doit être adressé au laboratoire.

9-2- Techniques directes ou après ablation du cathéter:[86]

Méthode nécessitant l'ablation du cathéter, elles permettent d'affirmer le diagnostic

9-2-1- Technique de culture semi-quantitative de Maki :

Le fragment du cathéter est roulé à la surface de la gélose, n'explorant que la partie extra-luminale. Le seuil de significativité a été fixé à 15 Ufc/ml par cathéter. La valeur prédictive positive est modeste VPP à 0.60, et une valeur prédictive négative VPN 0.95.

9-2-2- Technique de Brun-Buisson (culture quantitative de Cléri simplifié) :

Le cathéter est vortexé 1 minute dans 1 ml de sérum physiologique puis la charge bactérienne est dénombrée après culture de 10 µl. technique explorant la colonisation extra-luminale et une partie endo-luminale, et son seuil de significativité est de 10³ Ufc/ml. Sa valeur prédictive positive bien que modeste est supérieure à celle de Maki (0.65 vs 0.60).

9-2-3- Technique de Cléri :

Introduction de 1 ml de bouillon stérile dans la lumière du cathéter avec sonication pour décrocher les bactéries. Cette technique permet d'explorer à la fois la colonisation des deux parties intra et extra-luminale du cathéter, avec un seuil de significativité est à 10² Ufc/ml.

9-3-Techniques indirectes sans ablation de cathéter : [86]

Ces techniques permettent d'éviter le retrait prématuré ou inapproprié du cathéter, et s'adressent à des situations privilégiées, non urgentes ou l'on souhaite garder le cathéter.

9-3-1- Ecouvillonnage du point d'insertion du cathéter :

Un écouvillonnage de 2 cm² autour du site d'insertion est préconisé en cas de suspicion d'infection ou présence d'exsudat. Son seuil de significativité est fixé à 15 Ufc/ml. Elle explore la voie de contamination extra-luminale et sa valeur prédictive négative est bonne permettant d'exclure la colonisation ou l'infection du cathéter.

9-3-2 Les hémocultures quantitatives appariées :

Méthode qui présente les meilleures performances diagnostiques mais l'inconvénient d'une nécessité d'ensemencement des tubes spéciaux sans délai. L'implication du cathéter est établie sur le ratio cathéter vasculaire/périphérie ≥ 3 à 7 après dénombrement bactérien de l'espèce commune dans les échantillons de sang correspondants. Elle explore la contamination intra-luminale du cathéter avec une valeur prédictive positive (VPP) de 0.95 et négative (VPN) de 0.95.

9-3-3- les hémocultures qualitatives appariées avec différentiel de délai de positivité :

Elle implique de disposer d'un système automatisé à détection continue, et d'introduire le même volume de sang dans les flacons (périphérique/cathéter vasculaire) et à les insérer rapidement et simultanément dans l'automate. L'hémoculture prélevée sur cathéter doit se révéler positive au moins 2 heures avant celle prélevée en périphérie. Sa valeur prédictive positive VPP reste modeste avec 0.56, pour une valeur prédictive négative VPN de 0.95.

10- Stratégie thérapeutique : [89]

Le traitement initial d'une ILC résulte de la confrontation de 3 éléments : les signes locaux, les signes généraux et les résultats microbiologiques des prélèvements, deux questions se posent :

- Faut-il retirer le cathéter.
- Faut-il prescrire une antibiothérapie.

Les stratégies thérapeutiques sont assez différentes, l'attitude française est un traitement en fonction des circonstances alors que les américains proposent des attitudes systématiques pour le retrait du cathéter et pour l'antibiothérapie.

10-1- conduite à tenir vis-à-vis du CVC :

Pour les experts français, l'ablation d'un cathéter infecté s'impose :

- La présence des signes locaux francs ;
- Signes de gravité (choc septique)
- Bactériémie chez un porteur d'une prothèse endo-vasculaire.
- Infection compliquée d'emblée : endocardite, thrombophlébite, germes à haut risque (*Pseudomonas aeruginosa* ou *Candida*).

Alors que les experts américains proposent une ablation du cathéter devant :

- Tout épisode fébrile que le malade soit moyennement ou sévèrement atteint,
- Une bactériémie quels que soient les circonstances et les micro-organismes même peu pathogènes comme les Staphylocoques à coagulase négative.

10-2- Antibiothérapie :

Pour les experts français, l'antibiothérapie n'est pas systématique, son indication repose sur la sévérité du syndrome infectieux et l'existence ou non d'une bactériémie. Alors que pour les recommandations américaines, les indications sont plus larges en cas d'épisode fébrile chez un porteur de CVC, elle est systématique en cas de signe de gravité et d'une bactériémie.

La durée de l'antibiothérapie n'est pas standardisée, elle dépend de la nature du micro-organisme, positivité des hémocultures, existence de complications septiques, immunodépression, et la présence de matériel étranger.

Pour les levures, l'attitude raisonnable est d'initier le traitement antifongique quand il y a réellement un risque d'infection à levure, 90 % des souches sont sensibles au fluconazole.

La durée du traitement est de 14 jours après la dernière hémoculture négative pour les américains, et 14 à 21 jours pour les recommandations françaises sans notion d'hémoculture négative. En absence de candidémie, les recommandations sont de ne pas traiter et d'entreprendre une surveillance rapprochée et de répéter les hémocultures.

11- Prévention :[85, 90]

Les infections sur cathéter sont majoritairement d'origine exogène, donc considérée comme « évitables ». La prévention doit s'exercer à tous les niveaux : au moment du choix du cathéter, sa mise en place, son entretien ainsi lors de la manipulation de la ligne de perfusion.

11-1- Politique générale de prévention :

La limitation des indications de pose des CVC ainsi que leur ablation la plus précoce possible sont les méthodes de prévention primaire efficace. Les modalités de pose, d'entretien et d'utilisation doivent faire l'objet de protocoles définies par des protocoles écrits.

Les facteurs de risque sont essentiellement exogènes, et c'est pour ce type d'infection que les programmes de prévention sont plus efficaces :

- Formation d'équipes pour la prise en charge des cathéters.
- Formation aux bonnes pratiques d'hygiène.
- Une surveillance des taux et une rétro-information aux équipes doit être mise en place.

11-2-Technique de pose :

La pose du CVC doit être effectuée dans les conditions d'asepsie, même lors des échanges sur guide. L'asepsie de type chirurgical et la pose dans une chambre individuelle sont recommandées.

La qualité de la désinfection cutanée est l'une des principales mesures efficaces dans la prévention des BLC, et les antiseptiques les plus fréquemment utilisés sont les solutions à base de polyvidone iodée ou de chlorehexidine.

L'emploi de matériaux moins thrombogènes est recommandé (polyuréthane), l'utilisation des cathéters imprégnés d'héparine n'est pas recommandée.

11-3- Le site d'insertion du cathéter :

L'influence du site d'insertion sur le risque infectieux est liée au risque de thrombose qui favorise l'infection et à la densité bactérienne locale facteur de risque de bactériémies liées aux cathéters

La voie sous-clavière doit être préférée dès que la durée prévue de cathéterisation dépasse 5-7 jours. Si le risque de complications mécanique est élevé, l'abord jugulaire interne est envisagé. Le changement systématique des CVC n'est pas recommandé.

11-4- Pansements et entretien des cathéters:

L'utilisation d'un pansement semi-perméable et transparent permet la surveillance visuelle du site, aucune recommandation pour l'intérêt de l'utilisation des éponges imprégnées de chlorhexidine. Le rythme optimal de changement des pansements de CVC n'est pas connu mais ne doit pas être inférieure à 72 heures sauf cas de souillures accidentelles. En règle générale il faut éviter les manipulations excessives du cathéter central car elles augmentent le risque d'infection.

11-5- Echo-guidage :

La ponction veineuse écho-guidée réduit le temps de procédures et le nombre de complications mécaniques et pourrait également réduire le risque d'infection bactériémique, néanmoins il existe un risque infectieux lié à la présence de la sonde d'échographie.

11-6- Antibio-prophylaxie :

La prophylaxie antibiotique à la pose du cathéter n'a pas montré son efficacité.

VII- Mécanisme de la résistance bactérienne aux antibiotiques : [91-92]

La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère **naturel ou acquis**, son mécanisme et son support génétique.

- **La résistance naturelle ou intrinsèque** correspond à la capacité de résister à la présence d'un antibiotique pour toutes les souches d'une espèce ou d'un genre bactérien. Habituellement le support de cette résistance est chromosomique.
- **La résistance acquise** correspond à la capacité d'une bactérie de supporter une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce. Elle peut s'acquérir soit par mutation chromosomique, soit par acquisition de matériel génétique exogène.
- **Une bactérie est dite multi-résistante (BMR)** lorsque du fait de résistances naturelle ou acquise, elle n'est sensible qu'à un petit nombre de familles ou de sous familles d'antibiotiques

V-1- La résistance aux β -lactamines :

A- Les entérobactéries :

La résistance bactérienne des entérobactéries aux β -lactamines est due principalement à la production de β -lactamases, Actuellement, plus de 400 β -lactamases dont plus de 200 BLSE sont décrites.

La diversité des bêta-lactamases a entraîné de nombreuses tentatives de classification. Deux sont actuellement utilisées : la classification structurelle d'Ambler et la classification fonctionnelle de Bush.

- La classification structurelle d'Ambler définit quatre groupes : A, B, C et D.
 - **Les β -lactamases de classe A** sont sensibles à l'action de l'acide clavulanique, du sulbactam et du tazobactam. On y trouve la majorité des β -lactamases TEM, SHV, les CTX-M, et des carbapénèmases comme KPC et certains variants de GES.
 - **Les β -lactamases de classe B** contiennent des enzymes comportant deux atomes de zinc au site actif. Elles sont désignées comme métallo- β -lactamases et peuvent

hydrolyser les carbapénèmes. Ce sont principalement des carbapénémases comme IMP et VIM, elles sont inhibées par l'EDTA [93, 94].

- **Les β -lactamases de classe C** sont les céphalosporinases de type AmpC, inhibées par la cloxacilline.
 - **les β -lactamases de classe D** sont des oxacillinases, qui constituent une famille extrêmement composite en termes de spectre d'hydrolyse.
- La classification de Bush est fondée sur les caractéristiques physicochimiques des enzymes comme leur point isoélectrique, leur poids moléculaire, leur substrat d'activité et leur profil d'inhibition [95].

A-1- Les β -lactamases à spectre élargi BLSE :

Enzyme plasmidique ou présente dans un intégron, transposable, conférant une résistance à différentes bêta-lactamines, notamment les céphalosporines de 3^{ème} génération, mais respectant les céphamycines. Elles appartiennent aux bêtalactamases de classe A et sont habituellement détectées par une synergie entre une C3G et l'acide clavulanique.

A-1-1- BLSE de type TEM :(Tem oneira - nom du patient) [96, 97, 98]

De nombreux dérivés de TEM ont été décrits à ce jour, Bien que fréquemment retrouvées chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, les BLSE de type TEM ont aussi été rapportées parmi les autres membres de la famille des entérobactéries.

La majorité des BLSE de ce type dérivent par quatre à sept mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2). Ces BLSE étaient donc étroitement dérivées des β -lactamases à spectre étroit et conservaient ainsi la propriété d'être inhibées par les inhibiteurs de β -lactamase comme l'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam.

Cependant, d'autres mutations peuvent conférer la résistance aux inhibiteurs. Ces variantes sont appelées TRI (TEM résistantes aux inhibiteurs). Les enzymes dérivées par mutations permettant d'hydrolyser à la fois les C3G et les inhibiteurs sont de plus en plus fréquentes

A-1-2- BLSE de type SHV (Sulfhydryl variable) : [96, 99, 100]

La majorité des dérivés de SHV-1 ont un phénotype de BLSE, avec SHV-5 et SHV-12 étant les mutants les plus fréquents en Europe. Les BLSE de type SHV ont été détectées parmi de nombreuses entérobactéries, mais aussi chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* sp.

La première β -lactamase plasmidique hydrolysant les C3G a été isolée en Allemagne en 1983 au sein d'une *Klebsiella ozonae*. Cette β -lactamase était dérivée de la β -lactamase à spectre étroit SHV-1, par une simple mutation responsable de l'élargissement du spectre d'hydrolyse de cette enzyme. Elle fut ainsi nommée SHV-2. Après TEM, le type SHV constitue celui comportant le plus grand nombre d'enzymes BLSE.

A-1- 3- Les BLSE type CTX-M (Céfotaximase -Munich) :[94,97]

C'est en Allemagne, qu'une β -lactamase non-TEM non-SHV a été caractérisé chez une souche de *E. coli* résistante au céfotaxime, elle a été nommée CTX-M-1 « céfotaximase Munich ») en raison de son activité préférentielle marquée sur le céfotaxime. En revanche, l'inactivation de la ceftazidime est plus limitée, à l'exception d'enzymes récemment décrites (CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-27) qui ont une forte capacité hydrolytique pour la ceftazidime.

Les CTX-M sont plus fortement inhibées par le tazobactam que par l'acide clavulanique. Elles n'hydrolysent ni les céphamycines ni les carbapénèmes.

Ces enzymes «émergentes» pourraient représenter très prochainement les BLSE les plus fréquentes au sein des entérobactéries au niveau mondial après une diffusion rapide depuis le milieu des années 90.

La dissémination horizontale des gènes codant pour les enzymes CTX-M s'effectue via des plasmides conjugatifs mais aussi via d'autres éléments génétiques comme les intégrons et les séquences d'insertion. Au niveau structural, les CTX-M ne sont pas proches des β -lactamases de type TEM ou SHV (< 40 % d'identité).

De nombreux variants de CTX-M ont été décrits, On compte aujourd'hui plus de 90 CTX-M réparties en groupes phylogénétiquement différents :[95, 96].

- **CTX-M-1** : CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-10, CTX-M-12, CTX-M-15, CTX-M-22.
- **CTX-M-2** : CTX-M-2, CTX-M-4, CTX-M-5, CTX-M-6, CTX-M-7, CTX-M-20 et TOHO-1.
- **CTX-M-8** : CTX-M-8 et CTX-M-40.
- **CTX-M-9** : CTX-M-9, CTX-M-13, CTX-M-14, CTX-M-17, CTX-M-19, CTX-M-21, CTX-M-21 CTX-M-27 et TOHO-2.

-
- **CTX-M-25** :CTX-M-26
 - **CTX-M-45**

À l'intérieur de ces groupes les gènes ont entre eux plus de 94 % d'homologie, alors que les familles ont entre elles moins de 90 % d'homologie[101, 102, 103].

En 15 ans, la diffusion mondiale des BLSE de type CTX-M chez les entérobactéries a explosé de façon extrêmement rapide, d'où le terme de «pandémie CTX-M». Les études épidémiologiques récentes rapportent que la situation est endémique dans la plupart des pays d'Europe, d'Asie et d'Amérique du Sud avec de forts taux de prévalence de CTX-M parmi les souches productrices de BLSE.

A-1-4-Autres types de BLSE :

Dans ce groupe sont individualisées BES-1, GES-1, PER-1, SFO-1, TLA-1, et enfin VEB-1. Elles sont caractérisées par un haut niveau de résistance à la ceftazidime et parfois à l'aztréonam plutôt qu'au céfotaxime ont une distribution moins large que le groupe CTX-M. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique.

A-2- Les β -lactamases de la classe C : [98]

Les β -lactamases de la classe C (Amp C) sont codées par des gènes chromosomiques ou plasmidiques. Ces céphalosporinases sont cliniquement importantes chez *Enterobacter* spp, *Serratia marcescens*, et d'autres BGN. Elles sont capables d'hydrolyser les céphalosporines y compris les céphamycines (céfoxitine) mais pas le céfépime et sont résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases.

Le gène *AmpC* constitutif est absent chez *Klebsiella*, cependant, ces espèces peuvent acquérir différents sous-groupes d'AmpC codés par des plasmides. Actuellement, il existe plus de 20 β -lactamases AmpC différentes codées dans des plasmides

A-3- La résistance chromosomique acquise aux C3G et aux C4G

Cette résistance est liée à l'hyperproduction de la case : (mutation du gène régulateur *amp D*), ces enzymes en position chromosomique sont inductibles, caractère aisément détecté dans l'antibiogramme par diffusion par un antagonisme entre une bêtalactamine inductrice (imipénème) et une C3G.

A-4- La résistance aux carbapénèmes:

La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des bêta-lactamases :

- Le premier mécanisme associe la production d'une céphalosporinase ou une BLSE à une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des protéines transmembranaires que sont les porines.
- Le second mécanisme de résistance aux carbapénèmes est lié à l'expression de bêta-lactamases à forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes, les carbapénémases. Il est plus important d'un point de vue clinique car il compromet le plus souvent l'efficacité de presque toutes les bêta-lactamines.

Les carbapénémases décrites chez les entérobactéries appartiennent aux quatre classes connues de bêta-lactamases (classe A, B, C, D de la classification d'Ambler)

4-1- Bêta-lactamases de Classe A : [104, 105, 106, 107]

Elles hydrolysent, à divers degrés, toutes les bêta-lactamines, Leurs gènes sont chromosomiques ou plasmidiques.

Les carbapénémases de classe A, les plus fréquentes et les plus menaçantes, sont les carbapénémases de type KPC (KPC-2 à KPC-8). La première souche exprimant KPC *Klebsiella Pneumoniae* carbapenemase a été identifiée dans une souche de *K. pneumoniae* en 1996 aux États-Unis. KPC-2 hydrolyse toutes les bêta-lactamines bien que les céphamycines et la ceftazidime soient de mauvais substrats. Son activité est partiellement inhibée par l'acide clavulanique ou le tazobactam.

4-2-Bêta-lactamases de Classe B : [108, 109]

Plusieurs MBL (métallo-bêta-lactamases) ont été isolées dans le monde entier ; il s'agit des nombreuses variétés de bêta-lactamases de type IMP et VIM, GIM-1, KHM-1 et NDM-1. Ces enzymes hydrolysent fortement toutes les bêta-lactamines à l'exception de l'aztreonam Leur activité n'est inhibée ni par l'acide clavulanique ni par le tazobactam. Les niveaux de résistance aux carbapénèmes sont assez variables et dans de nombreux cas, les souches productrices de MBL produisent aussi des BLSE

4-3-Bêta-lactamases de Classe C et D : [110, 111]

La carbapénémase de classe D, OXA-48, décrite tout d'abord chez *K. pneumoniae* hydrolyse les carbapénèmes et n'hydrolyse pas les céphalosporines de 3 générations. Son activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique.

OXA-48 est souvent associée à d'autres bêta-lactamases, en particulier des BLSEs, ce qui contribue à la multirésistance des souches. En l'absence d'autres bêta-lactamases, les souches qui ne produisent que l'OXA-48 peuvent ne présenter qu'une légère diminution de la sensibilité aux carbapénèmes.

B- *Acinetobacter baumannii* :

Les souches d'*A.baumannii* sont naturellement résistantes à la pénicilline G, à l'amoxicilline et aux céphalosporines de première et deuxième générations. Elles produisent une bêta-lactamase de type céphalosporinase (ou AmpC), désignée également «*Acinetobacter-derived cephalosporinases* » (ADCs).

A. baumannii possède aussi naturellement sur son chromosome un gène codant pour une oxacillinase (ou β -lactamase de classe D) dont le représentant principal est OXA-51, avec de très nombreux variantes décrits comme OXA-69, OXA-66 par exemple. Le rôle des gènes de type *bla*_{OXA-51} dans la résistance naturelle de *A. baumannii* semble très faible. La résistance naturelle d'*A.baumannii* à certaines β -lactamines résulte de l'association de plusieurs mécanismes incluant une taille réduite des protéines de membrane externe et une production limitée de porines[112, 113].

B-1- Résistance enzymatiques

B-1-1-Les céphalosporinase Amp C :[114]

Différents mécanismes de résistance aux β -lactamines ont été signalés et identifiés chez *Acinetobacter baumannii* liés principalement à la production de β -lactamases.

Acinetobacter baumannii produit naturellement une céphalosporinase de type AmpC qui est normalement exprimé à bas niveau, et ne diminue pas l'efficacité des céphalosporines à large spectre (Céfalotine) ou des Carbapénèmes. L'insertion d'une séquence spécifique ISAbal en

amont du gène blaAmpC favorise l'expression de cette β -lactamase de type AmpC en fournissant des séquences promoteur ce qui entraîne la résistance à la Ceftazidime

B-1-2- Les β -actamases à spectre élargi [115, 116, 117, 118, 119, 120]

Chez *A. baumannii* les BLSE sont soit chromosomiques ou plasmidiques; Les enzymes du type GES et PER, VEB, ont été largement retrouvées chez *A. baumannii*, Les enzymes du type VEB hydrolysent de préférence la Ceftazidime et l'Aztréonam. Les gènes correspondant à ces BLSE sont le plus souvent retrouvés dans des structures de type intégron comme gènes cassettes (VEB-1, GES-1, GES-3) et donc sous la dépendance de promoteurs situés à l'extrémité 3' du gène de l'intégrase. Plus récemment, la BLSE la plus répandue dans le monde, CTX-M-15, a été identifiée chez *A. baumannii*.

B-1-3-Résistances aux carbapénèmes

Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine de la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii*.

B-1-3-1-Carbapénèmases de classe B : [121, 122, 123, 124, 125, 126, 127]

Les β -lactamases de classe B « Appelée métallo- β -lactamases (MBLs) ». Les déterminants MBLs les plus décrits chez *A. baumannii* sont les dérivés de type IMP, VIM, SIM et NDM. Des variants IMP, VIM ont été décrits dans plusieurs pays d'Asie et d'Europe.

Un des derniers déterminants décrits, NDM-1 New-Delhi Métallo-bêta -Lactamase, a notamment largement été médiatisé et son importante capacité de dissémination cause un réel problème de santé publique, NDM-1 a été découvert pour la première fois en 2008 chez un patient suédois rapatrié après avoir été hospitalisé à New Dehli (*Klebsiella pneumoniae*/*Escherichia coli*) et en 2010 chez *A. baumannii* en Inde [128, 129].

B-1-3-2 Carbapénèmases de classe D : [130, 131]

Les oxacillinases en général hydrolysent l'oxacilline, la méthiciline, la cloxacilline et la Benzylpénicilline, et leur activité est inhibée par NaCl, De plus, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique. La plupart des β -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 du avoir lieu comme pour les dérivés de TEM/SHV.

Des oxacillinasés aux propriétés de carbapénémases sont identifiées chez *A. baumannii*, ces oxacillinasés sont de trois grands types : OXA-23, OXA-24/OXA-40 et OXA-58 :

- Les oxacillinasés telles que OXA-23, initialement dénommée ARI-1 « *Acinetobacter* résistant à l'imipénème-1 » a été identifiée pour la première fois en Ecosse [132]. Ce gène a été identifié à travers le monde entier chez *A. baumannii* [133].
- OXA-24, est moins fréquent que OXA-23 il a été identifiée dans plusieurs régions en Europe et en Algérie.
- Le gène OXA-58 a été identifié dans plusieurs pays du monde [134, 135, 136, 137, 138]

Certains auteurs ont évoqué la possibilité d'une surexpression de l'oxacillinasé naturelle de *A. baumannii* OXA-51 et ses variantes par insertion de *ISAbal* en amont du gène codant pour cette β -lactamase. Cependant, la réelle contribution de la structure *ISAbal*-gène de type *bla*_{OXA-51} à la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* fait débat puisque cette structure a été identifiée dans des souches *A. baumannii* résistantes et sensibles aux Carbapénèmes [139].

B-2-Mécanismes non-enzymatiques

Les mécanismes de résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* sont moins fréquents que les mécanismes enzymatiques mais font l'objet d'un nombre croissant de publications. De plus, les mécanismes enzymatiques et non-enzymatiques peuvent être associés dans une même souche de *A. baumannii*.

B-2-1-Diminution de la perméabilité membranaire [140, 141, 142]

Des modifications de la perméabilité membranaire de *A. baumannii* peuvent entraîner une résistance aux carbapénèmes. Ainsi, la perte de la protéine de membrane externe CarO, secondaire à l'interruption du gène *carO* par différentes séquences d'insertion (notamment *ISAbal825*) peut être à l'origine d'une résistance aux carbapénèmes.

B-2-2-Efflux [141]

L'implication de systèmes d'efflux naturels ou acquis dans la multirésistance aux antibiotiques chez *A. baumannii* est de plus en plus étudiée. Parmi les superfamilles de pompes d'efflux, les systèmes RND (Resistance-Nodulation-Division) sont les plus prévalent chez *A. baumannii*.

B-2-3-Modification de PLPs : [142]

Une modification des PLPs à l'origine de la résistance aux carbapénèmes chez *A. 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.

C - *Pseudomonas aeruginosa* : [143, 144, 145]

Il possède **une résistance naturelle** à un grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une bêta-lactamase chromosomique inductible de classe C qui n'est pas inhibée par le clavulanate, et d'une mauvaise perméabilité membranaire. A ces différents mécanismes, s'ajoute le système d'efflux actif MexAB-OprM, produit constitutivement chez les bactéries sauvages, et qui joue un rôle fondamental dans la résistance naturelle.

C-1- Résistance acquise par hyperproduction de la céphalosporinase AmpC [146, 147]

Les céphalosporinases appartiennent à la classe C de la classification d'Ambler, ce sont des sérine-enzymes. Le mécanisme le plus fréquent est une hyperproduction constitutive de l'AmpC. La surproduction constitutive de l'enzyme AmpC affecte principalement l'activité de la ticarcilline, de l'association pipéracilline-tazobactam, de la ceftazidime, de l'aztréonam et dans une moindre mesure du céféprime.

L'hyperproduction de céphalosporinase de type AmpC permet *P. aeruginosa* de résister à toutes les β -lactamines à l'exception des carbapénèmes. L'efficacité de AmpC dépend, à la fois, de la perméabilité de la membrane externe et de l'efflux des molécules d'antibiotiques.

C-2- Résistance acquise par β -lactamases à spectre étendu (BLSE) : [148, 149, 149, 150]

Les β -lactamases à spectre étendu hydrolysent non seulement les carboxypénicillines et les ureidopénicillines, mais aussi les céphalosporines (ceftazidime, céfépime, céfpirome et l'aztréonam). L'activité *in vitro* est inhibée par l'acide clavulanique et le tazobactam. En plus des BLSE de type TEM et SHV qui sont largement décrits chez les entérobactéries, d'autres BLSE ont été identifiées chez *P. aeruginosa* : **PER-1** (*Pseudomonas* extended resistance), **VEB** (Vietnam Extended-spectrum Beta-lactamase) et **GES** (Guyana Extended-Spectrum Beta-lactamase).

C-3- Les Carbapénèmases de classe A : [151]

Il existe des carbapénèmases de classe A plasmidique comme KPC et GES. Les enzymes de type GES sont initialement des BLSE dont seuls quelques variantes touchent les carbapénèmes. Leur structure est très similaire à la BLSE GES-1. L'élargissement du spectre aux carbapénèmes, qu'elles hydrolysent relativement faiblement, ne s'explique que par des changements ponctuels d'acides aminés.

C-4- Résistance par production de β -lactamases de classe B (carbapénèmases) : [152, 153]

Les enzymes de ce groupe sont également connues sous le nom de carbapénémase ou metallo- β -lactamase (MBL) en raison de la présence d'un ou deux atomes de Zn^{2+} dans leur actif pour hydrolyser des β -lactamines. Seul le monobactam est épargné par les caractéristiques hydrolytiques des MBL. L'activité enzymatique des carbapénèmases n'est inhibée ni par l'acide clavulanique ni par le tazobactam, mais par l'EDTA, qui chélate les ions zinc présents au niveau du site actif.

Il existe de nombreuses variétés de MBL regroupées dans plusieurs familles : VIM, IMP, GIM, SIM, SPM ou NDM.

Ces MBL sont principalement retrouvées chez *P. aeruginosa*, mais ont également été décrites chez de nombreuses entérobactéries, en particulier *K. pneumoniae*. L'enzyme VIM-2 est la MBL la plus fréquemment isolée dans le monde. Les autres familles de MBL sont décrites de façon sporadique.

C-5 Résistance par production de β -lactamases de classe D :

Les oxacillinases sont des pénicillinases dont le spectre s'est étendu dans certains cas aux C3G et dans d'autres aux carbapénèmes. Les carbapénèmases de type OXA présentent une grande diversité de séquences protéiques, mais ont un spectre d'activité assez proche. Ces enzymes hydrolysent partiellement l'imipénème malgré une grande affinité de l'enzyme pour ce substrat. Leur activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique ou le tazobactam. En l'absence d'autres mécanismes de résistance elles n'entraînent qu'une légère diminution de la sensibilité aux carbapénèmes.

C-6- Résistance à l'imipénème par perte de la porine OprD₂ :

Le principal mécanisme par lequel *P. aeruginosa* acquiert une résistance aux carbapénèmes est la réduction de la perméabilité par perte de la porine OprD, voie préférentielle de pénétration des carbapénèmes. Cette perte de porine est en effet responsable d'une augmentation de la CMI, rendant la souche intermédiaire ou résistante aux carbapénèmes. La résistance est généralement croisée entre les molécules, mais il convient de le vérifier au cas par cas.

D- Résistance du *Staphylococcus aureus* aux β -lactamines :

Deux mécanismes expliquent la résistance du *Staphylococcus aureus* aux β -lactamines : la production de β -lactamase et la modification de la cible par l'acquisition d'une PLP exogène ou la modification des PLP endogènes. La PLP2a est codée par le gène MecA.

V-2- La résistance aux aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques hydrosolubles, très stables, à spectre large et dotés d'une activité bactéricide rapide. L'addition d'un aminoside présente de nombreux avantages théoriques : élargissement du spectre, activité synergique, augmentation de la bactéricide et la prévention de l'émergence de mutants résistants.

Leur large utilisation a contribué à l'émergence de souches résistantes qui constituent une limite à leurs efficacités.

2-1- Mécanisme de résistance bactérienne aux aminosides : [154]

La résistance est le plus souvent due à des enzymes inactivatrices, le plus souvent codée par des gènes plasmidiques ou chromosomiques. Parmi ces enzymes, les acétyltransférases sont les plus communes mais d'autres enzymes responsables peuvent être impliquées.

Les mécanismes généraux de résistance aux antibiotiques sont:

➤ **Pour les bactéries à Gram négatif :**

- La modification enzymatique,
- L'altération de la cible,
- La réduction de l'accumulation intracellulaire de l'antibiotique par imperméabilité ou export.

➤ **Pour les bactéries à Gram positif :**

- La modification enzymatique.

-
- L'altération du ribosome.

2-2-Modification enzymatique de l'antibiotique

C'est en fonction de la réaction catalysée que ces enzymes ont été nommées:

- Une acétylation d'un groupement aminé N-acétyltransférase (AAC),
- Une phosphorylation d'un groupement hydroxyle phosphotransférase (APH),
- Une nucléotidylation O-nucléotidyltransférase (ANT).

Les sous-classes sont définies par le site de modification de l'aminoside. Chaque enzyme dégrade un certain nombre d'aminosides structuralement apparentés ce qui se traduit par un phénotype de résistance in vivo. Ces enzymes sont produites de façon constitutive c'est-à-dire en l'absence d'antibiotique.

Des mutations ponctuelles dans les gènes de structure pouvaient entraîner des modifications des profils de substrat des enzymes et l'hyperproduction de l'enzyme pourrait conduire au piégeage de l'antibiotique.

Le niveau de résistance varie selon la classe d'enzyme (les phosphotransférases confèrent habituellement un haut niveau de résistance. Étant donné le chevauchement des profils de substrats enzymatique, un même composé peut être modifié par des enzymes distinctes.

2-3- Altération de la cible :

Le mode d'action des aminosides laisse présager la mutation de l'ARN 16S comme moyen de résistance, toutefois ce mécanisme est restreint par l'existence de plusieurs copies de l'opéron ARN ribosomal par bactérie. La probabilité de survenue de mutation concomitante est extrêmement faible.

2-4- Piégeage de l'antibiotique

Le piégeage de l'antibiotique a été proposé comme mécanisme responsable du phénotype de résistance à la kanamycine et à la tobramycine alors que la gentamicine et la nétilmicine restent actives.

2-5- Imperméabilité ou exportation de l'antibiotique :

La pénétration des aminosides à travers la membrane se fait par les porines, des mutations affectent à la fois les porines et d'autres structures de la membrane externe entraînant une

résistance croisée entre Bétalactamines et aminosides. Certaines bactéries peuvent exporter les aminosides grâce à des systèmes d'efflux.

2-6- Altération du ribosome :

Ce mécanisme concerne essentiellement la streptomycine qui par sa fixation sur une seule protéine ribosomale permet la sélection de mutants présentant un haut niveau de résistance.

Ces mutants sont décrits chez *Enterococcus faecalis* et *streptococcus pneumoniae*.

V-3- La résistance aux fluoroquinolones :[155]

Les mécanismes de résistance les plus fréquemment retrouvés et les plus anciens sont :

- **Les mutations ponctuelles chromosomiques** dans les cibles de l'antibiotique, la **gyrase** codée par les gènes *gyrA* et *gyrB* et la **topo-isomérase IV** (gène *parC*), suivies par les mécanismes liés à une diminution de perméabilité de la bactérie et à un efflux actif.
- un mécanisme **d'efflux** avec régulation des pompes à efflux natives. Plusieurs mutations doivent s'additionner pour entraîner une résistance de haut niveau.

Récemment, des **mécanismes de résistance plasmidiques** conférant des bas niveaux de résistance et transférables horizontalement entre les souches bactériennes. Le premier plasmide découvert code pour une protéine appelée quinolone résistance (**Qnr**) et protège l'ADN gyrase de l'activité des quinolones. Ces protéines confèrent une résistance de bas niveau. D'autres gènes de résistance plasmidique transférables ont été décrits: ***aac(6')-Ib-cr*** et ***qepA*** . Ils sont responsables de résistance de bas niveau aux quinolones, mais concourent à une augmentation de la fréquence de sélection des mutants résistants et à une diminution de la bactéricidie.

Très récemment il a été montré que des mutations survenant dans certaines enzymes bactériennes primitivement capables de modifier la sensibilité aux aminosides en élargissant le spectre d'activité vers certaines fluoroquinolones, diminuant ainsi la sensibilité à la ciprofloxacine.

VII- Marqueurs épidémiologiques des infections nosocomiales :[156]

Le laboratoire joue un rôle important dans les enquêtes épidémiologiques grâce à l'analyse comparative des souches bactériennes impliquées dans les épidémies

En plus d'une identification précise et d'un antibiogramme détaillé, le clinicien a souvent besoin de savoir si la souche bactérienne isolée chez un patient provient de la même source que d'autres souches apparemment identiques et isolées chez d'autres patients ou dans l'environnement. La mise en évidence d'une telle chaîne nécessite une méthode de typage qui permettra une différenciation plus précise entre des souches de même espèce.

L'apport des méthodes d'analyse moléculaire a permis d'obtenir de meilleures performances que celles procurées par les méthodes phénotypiques utilisées en routine, et qui se caractérisent par une simplicité et un coût raisonnable.

Il n'existe pas de méthode de typage idéale, et il faudra avoir recours à plusieurs méthodes. Le choix dépend de l'espèce bactérienne à caractériser et des objectifs recherchés.

Buts des marqueurs :

- Identifier un clone bactérien au sein d'une espèce.
- Suivre la diffusion d'un clone bactérien.

Intérêts des marqueurs :

- Reconnaître une épidémie
- Prouver la transmission d'une souche.
- Identifier l'origine d'une infection
- Détection de fragments d'ADN portant des gènes de résistance, et de virulence.

1-Caractéristiques d'un système idéal de typage bactérien :[157]

1-1- La stabilité :

La stabilité d'un marqueur épidémiologique est la capacité de celui-ci à assigner une souche à un même type en dépit des variations phénotypiques et génomiques qui peuvent survenir après plusieurs repiquages successifs de la souche ou après conservation de celle-ci pendant une période donnée.

1-2- Le pouvoir discriminant :

Le pouvoir discriminant est la capacité à assigner dans des types différents des souches non épidémiologiquement reliées choisies au hasard. Le pouvoir discriminant est calculé à l'aide de l'indice de Hunter.

$$\text{IndicedecapacitédiscriminaantedeHUNTER} = 1 - \frac{1}{N(N-1)} \sum_{j=1}^n n_j(n_j - 1)$$

N est le nombre total de souches, et n_j le nombre de souches de type j.

1-3- Reproductibilité :

La reproductibilité est la capacité de celui-ci à assigner une souche à un même type lors de la répétition du test. Elle évalue les variations liées aux étapes techniques et les variations liées à l'interprétation des résultats par différents observateurs. En pratique, la reproductibilité doit être supérieure à 95 %.

Reproductibilité (%) = nombre de souches appartenant au même type/nombre de répétitions du test × 100

1-4- Typabilité :

La typabilité est la proportion de souches, au sein d'une espèce donnée, typables par la méthode utilisée, en d'autres termes, c'est la capacité de la méthode à pouvoir assigner un type à toutes les espèces testées. La valeur doit être la plus proche possible de 100 %.

Typabilité (%) = nombre de souches typables/nombre total de souches typées × 100

1-5- La concordance épidémiologique

La concordance épidémiologique est définie comme la probabilité de classer comme « clones » des souches isolées d'une épidémie parfaitement documentée par une enquête épidémiologique minutieuse.

2- Outils de typage :

Parmi toutes les méthodes de typage, celles utilisées en épidémiologie sont les méthodes permettant de révéler des variations entre souches. Celles qui analysent les variations au niveau du genre ou de l'espèce servent à la phylogénie ou au diagnostic d'espèce.

Les systèmes de typage peuvent être classés en deux catégories :

- Les marqueurs phénotypiques qui détectent les caractères exprimés par les micro-organismes.
- Les marqueurs génotypiques qui se basent sur les caractères de l'ADN chromosomique ou extra-chromosomique.

3-Marqueurs phénotypiques :[158, 159]

Ce sont les premières méthodes de typage utilisées pour caractériser les isolats microbiens et qui sont encore utilisées en raison de leur facilité d'utilisation et de leur faible coût. Ces méthodes étudient les caractères exprimés par les micro-organismes.

L'étude des caractères phénotypiques d'une bactérie repose sur l'étude de :

- Biotype (typage biochimique).
- Antibiogramme ou anti-biotype (résistance aux antibiotiques).
- Sérotypes (Ag de surface).
- Lysotypes (sensibilité aux bactériophages).
- Electrophorèse des protéines.

Les limites des marqueurs phénotypiques :

- Variations phénotypiques en rapport avec les conditions de culture, du site d'isolement.
- Peu discriminants : deux souches avec le même biotype et anti-biotype peuvent être différentes.
- Nécessité d'un équipement et d'un laboratoire de référence pour la réalisation de certains tests spécifiques (lysotypie et l'électrophorèse des protéines).

3-1- La biotypie :

C'est une étape importante de l'identification microbiologique des espèces bactériennes, utilisé pour classer les souches bactériennes selon leurs profils biochimiques, morphologiques ou aux tolérances environnementales.

Elle repose sur la mise en évidence des caractères biochimiques différentiels qui permettront de classer les souches selon leur activité métabolique par l'utilisation de sucre et/ou leur activité enzymatique. Il est employé pour aider à déterminer les espèces bactériennes facilité

par la composition des différents milieux de croissance et certaines réactions chimiques. De coût relativement modéré, cette méthode est facilitée par l'automatisation et la commercialisation des batteries de tests rapides d'identification bactérienne.

Cependant, ce marqueur est peu discriminant au delà de l'espèce pour être utilisé seul, consomme du temps et est potentiellement imprécis, cependant il peut être utile comme système d'alerte ou de surveillance pour repérer une souche bactérienne.

3-2- Le sérotypage :

Le principe de la sérotypie est basé sur les réactions antigènes-anticorps, les bactéries portent de nombreux antigènes (de surface, toxines, de virulence), peuvent être reconnues par des anticorps. Cette réaction est visualisée par une agglutination qui est le résultat macroscopique de la réaction.

Cette méthode est encore utilisée en routine pour le diagnostic bactériologique, mais ces applications en épidémiologie sont limitées par son pouvoir discriminant, son manque de standardisation, le défaut de typabilité de certaines souches bactériennes et le coût des antisérums qui ne sont pas toujours à la portée du laboratoire de microbiologie.

3-3- La lysotypie :

La lysotypie appelée aussi typage par phage, consiste à étudier des profils de sensibilité ou de résistance d'une souche à une série de bactériophages pour offrir un maximum de discrimination entre les souches d'une même espèce. Les bactériophages sont des virus capables de s'attacher à la membrane externe et provoquer la lyse bactérienne.

Cette technique a été développée pour un certain nombre de pathogènes nosocomiaux (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*...).

Les inconvénients de cette technique :

- Manque de standardisation.
- Difficulté de conservation des bactériophages.
- Faible reproductibilité.
- La nécessité d'un laboratoire de référence pour l'obtention des souches phagiques.

3-4- L'antibiogramme:

Méthode facilement réalisable et standardisée ne nécessitant pas un équipement sophistiqué, basé sur l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

L'antibiogramme est exécuté selon différentes méthodes, la méthode de diffusion en disque sur gélose ou par la méthode de micro-dilution qui apporte une mesure quantitative de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Le résultat de la méthode de diffusion est rendu habituellement sous forme qualitative : sensible, intermédiaire ou résistant, permettant de passer en revue d'éventuelles résistances.

Le résultat est rendu sous forme qualitative par la concentration minimale inhibitrice (CMI) correspondant à la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance bactérienne in vitro. Récemment le test CMI peut être réalisé par système automatisé dans les cartes d'essai VITEK. La micro-dilution est considérée comme la méthode de référence bien que ce ne soit pas tous les systèmes.

L'intérêt essentiel de l'antibiogramme est de permettre de suspecter la survenue d'une épidémie hospitalière. Cependant, ces tests conventionnels requièrent en priorité l'obtention d'une culture bactérienne, un délai minimum de 48 H. Leur fiabilité peut être irrégulière car dépendante de la qualité du prélèvement, de la taille de l'inoculum et des conditions de culture pouvant modifier l'expression phénotypique des résistances

Son inconvénient majeur est représenté par son faible pouvoir discriminant et par la variabilité génétique de la résistance aux antibiotiques.

3-5 L'électrophorèse des protéines :

La technique permet d'obtenir des profils de protéines totales ou de l'enveloppe dont l'interprétation est rendue souvent difficile par la présence de plusieurs bandes.

4-Marqueurs génotypiques :[157, 160, 161]

Plusieurs méthodes moléculaires ont émergées dans le typage des souches bactériennes, elles sont basées sur l'analyse de l'ADN génomique, molécule porteuse de l'information génétique caractéristique d'une souche.

Ces méthodes sont caractérisées par un pouvoir discriminatoire suffisant pour des isolats génétiquement semblables, cependant ces méthodes sont laborieuses et non appropriées à la routine.

Les méthodes de typage moléculaire sont divisées en deux groupes:

- 1- Méthode par amplification de l'acide nucléique par polymérase chaineréaction (PCR)
Profils de fragments d'ADN (enzymes de restriction par PCR).
- 2- Méthode de séquençage d'un gène avec comparaison des séquences.

4-1-Méthodes d'amplification :

En raison de la confusion dans l'appellation des méthodes de typage moléculaire utilisées en épidémiologie, une classification est proposée, basée sur le fait que les méthodes moléculaire comprennent toujours deux étapes :

- l'isolement de la partie du génome que l'on veut étudier (chromosome, plasmide ou gène),
- l'étude de son polymorphisme.

L'isolement spécifique d'un gène se fait par amplification. L'isolement des chromosomes ou des plasmides à partir des cellules s'est considérablement simplifié grâce à l'évolution des techniques.

La révélation du polymorphisme peut être réalisée principalement par deux techniques de biologie moléculaire : la restriction ou l'amplification. On aura, ainsi, essentiellement deux grandes catégories de méthodes : les méthodes de RFLP (« *Restriction fragment length polymorphism*») étudiant le polymorphisme de fragments obtenus par restriction, et les méthodes d'AFLP («*Amplified fragment length polymorphism*») pour lesquelles le déterminant dupolymorphisme est l'amplification. Selon la partie du génome étudié, le préfixe « plasmide », « chromosome » ou « gène » sera ajouté au début du nom attribué à la technique. Les techniques d'hybridation et d'électrophorèseservent le plus souvent à la visualisation des variationsgénétiques entre les souches. Il faut noter que l'électrophorèsepout exceptionnellement à elle seule être le déterminant du polymorphisme, comme c'est le cas pour la migration de chromosomes entiers chez des bactéries possédant plusieurs réplicons ou encore l'électrophorèse de plasmides sans restriction préalable.

Tableau 2 : Principales méthodes de typage moléculaire[156]

Groupe de méthodes	Dénomination usuelle des méthodes	Reproductibilité	Pouvoir discriminant
RFLP sur ADN plasmidique (« <i>Plasmid DNA RFLP analysis</i> »)	Profil plasmidique	Correcte	Correct
RFLP sur ADN chromosomique (« <i>Chromosomal DNA RFLP analysis</i> »)	- Electrophorèse en champ pulsé (« <i>Low frequency RFLP analysis</i> »)	Très bonne	Très bon
	- Ribotypage (« rDNA SRFH »)	Très bonne	Bon
	- Amplification sélective des fragments de restriction (« RFLP-SRFA »)*	ND**	Très bon
AFLP sur ADN chromosomique (« <i>Chromosomal DNA RFLP analysis</i> »)	- Amplification aléatoire AP-PCR, RAPD, DAF	Bonne	Bon
	- Amplification de séquences répétées REP-PCR, ERIC-PCR	Très bonne	Bon
RFLP de gènes spécifiques	PCR-RFLP	Très bonne	Bon
Séquençage nucléotidique	MLST	Très bonne	Très bon

La comparaison des profils peut se faire à l'aide de deux coefficients de similitude :

- Coefficient de **Dice** : il compare les profils en regardant le nombre de bandes communes et le nombre de bandes différentes de chaque souche. Il est utilisé lorsque l'interprétation est binaire (présence ou absence).
- Coefficient de **Pearrson** : il prend en compte l'intensité des bandes, il est utilisé pour réaliser un dendrogramme permettant d'évaluer le degré de relation entre souches. Il existe différents logiciels informatiques pour construire les dendrogrammes, et qui permettent le regroupement des souches les plus semblables.

4-2- Méthodes de séquençage :

L'automatisation récente des techniques de séquençage permet d'envisager aujourd'hui son utilisation pour le typage moléculaire. Ainsi, une nouvelle approche a été récemment mise au point : la MLST (*Multilocus sequencing typing*). Cette méthode est proche conceptuellement de la MLEE (*Multilocus enzyme electrophoresis*) mais l'identification des allèles de gènes « *housekeeping* » se fait directement par séquençage nucléotidique d'un fragment interne de ce gène. Cette modification permet, par rapport à la MLEE, de détecter un plus grand nombre de variations donc beaucoup plus d'allèles par *locus*. En effet, même les variations de séquences nucléotidiques qui n'entraînent pas de modification des séquences d'acides aminés peuvent être détectées par cette méthode. Cette possibilité lui confère un pouvoir discriminant

plus important que celui de la MLEE. Les autres avantages sont une très bonne reproductibilité et la possibilité de consulter des banques de données permettant d'effectuer des comparaisons de souches dans le monde entier.

4-3- Application de l'épidémiologie moléculaire :

En épidémiologie moléculaire, deux types d'approches dont les objectifs sont fondamentalement différents :

- l'identification d'une épidémie qui cherche à montrer la clonalité des souches (infections nosocomiales)
- l'étude de la structure des populations, qui prend en compte la notion de temps et donc la phylogénie

4-3-1- La détection des épidémies :

Pour pouvoir authentifier une épidémie et éventuellement en trouver la source, on doit chercher à démontrer que les souches bactériennes d'une même espèce, isolées dans ce contexte, sont identiques. Les méthodes de typage moléculaire apportent beaucoup d'informations sur les mécanismes de transmission croisée à condition qu'elles soient utilisées à bon escient, en coordination avec les résultats apportés par les enquêtes sur le terrain.

Le typage moléculaire se base sur le principe que les souches responsables d'une épidémie dérivent de l'expansion clonale récente d'un ancêtre commun. C'est l'épidémiologie locale ou épidémiologie à court terme. Les souches « épidémiques » ont des caractères génétiques identiques, spécifiques, qui diffèrent de ceux des souches non épidémiques de la même espèce bactérienne. Les méthodes utiles à l'étude des infections nosocomiales devront donc être capables de reconnaître ces caractères.

4-3-2- Etude de la structure des populations bactériennes :

La MLST et la MLEE s'appliquent plus spécifiquement aux études épidémiologiques à l'échelle de la planète. En effet, elles détectent les variations résultantes de l'accumulation lente de petits événements génétiques non létaux. Ces méthodes sont plus appliquées à l'étude de l'évolution génétique qu'à l'épidémiologie locale.

5 - Nouvelles techniques :[162, 163, 164, 165]

5-1- La spectrométrie de masse : (MALDI-TOF MS)

Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS).

La spectrométrie de masse constitue une réelle révolution dans le monde de la microbiologie, elle est utilisée depuis plusieurs années en chimie clinique, et progressivement elle s'est aussi implantée en microbiologie clinique. L'outil s'avère particulièrement utile pour l'identification des germes à croissance difficile.

Le principe consiste en une co-cristallisation de l'échantillon à identifier avec une matrice, le complexe formé est volatilisé, ionisé par un faisceau laser, ainsi les particules ionisées sont séparées sur la base de leur rapport masse sur charge.

5-2- Nouvelles techniques spectrométriques :

D'autres techniques spectrométriques appliquées à l'analyse protéomiques ou génomiques sont en cours développement pour la microbiologie.

5-2-1- SELDI-TOF MS:

La SELDI-TOF MS ou Surface-Enhanced Laser Desorption-Ionization Time-Of-Flight est une technique basée l'utilisation de surfaces comparables à des colonnes chromatographiques visant à sélectionner et retenir les protéines d'intérêts présentes dans un échantillon clinique avant ionisation et séparation dans le tube.

5-2-2- PCR-ESI-MS :

La PCR-Electrospray Ionization Mass Spectrometry repose sur la dissolution des produits PCR dans un solvant avant ionisation douce par électrospray, et permet une identification directe à partir d'un échantillon clinique. Cependant le coût reste un frein à son utilisation qui reste l'apanage des centres de références.

5-2-3- MALDI-RE :

La MALDI-Resequencing repose sur la transcription des amplicons d'ADN en ARN qui sont clivés pour analyse subséquente par spectrométrie.

MATERIELS ET METHODES :

I- Le profil bactériologique et épidémiologique des infections nosocomiales :

1- Lieu et période de l'étude

Notre étude a été réalisée dans le service de réanimation médicale polyvalente de l'hôpital Ibn Sina du CHU Annaba, qui comprend 19 lits, avec une superficie de 550 m². Ce service accueille les patients âgés de plus de 15 ans.

La réanimation du CHU d'ANNABA est un service à vocation régionale. Il est situé au niveau de la structure hospitalière IBN SINA. C'est la seule réanimation médicale du CHU Annaba, et reçoit les patients de toute la wilaya d'Annaba et des wilayas limitrophes (Guelma, Souk ahras, El Taref, Tebessa).

L'étude s'est déroulée sur une période de trois années : du 1^{er} Janvier 2009 au 31 décembre 2011.

2- Type d'enquête :

Il s'agit d'une surveillance épidémiologique des infections nosocomiales, ayant pour but de décrire le profil bactériologique des infections nosocomiales.

3- Critères d'inclusion

Sont inclus dans l'étude :

Tous les patients séjournant plus de 48 heures dans le service.

La méthodologie adoptée consiste en un système de surveillance « ciblée » basé sur l'étude des trois principaux sites anatomiques qui sont en relation avec les actes médicaux de routine en réanimation médicale:

- Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM).
- La bactériémie liée ou non au cathétérisme veineux central (BL-CVC et BN).
- L'infection urinaire.

Les critères de diagnostics retenus dans le service de réanimation médicale pour cette étude sont ceux de l'European Center for Diseases Control (E-CDC):

- 1- Le diagnostic de pneumopathie associé à la ventilation mécanique est retenue en cas de ventilation mécanique avec :
 - a- Fièvre,

-
- b- Secrétions purulentes.
 - c- Apparition d'une ou plusieurs opacités parenchymateuses à la radiographie du thorax.
 - d- Identification de germes à la culture quantitative du prélèvement bronchique distal protégé (PPD) avec une numération supérieure ou égale à 10^3 UFC/ml,
- 2- Le diagnostic de bactériémie est retenu devant une hémoculture positive, ou sepsis clinique sans confirmation bactériologique en l'absence d'autre foyer infectieux.
 - 3- Le diagnostic de l'infection urinaire est retenu en cas d'isolement d'un ou de deux bactéries au maximum à une numération de 10^5 UFC/ml du prélèvement d'urine associé ou non à une leucocyturie.
 - 4- La bactériémie liée au cathéter veineux central est définie par la culture positive de l'extrémité du cathéter ôté selon la méthode de Brun-Buisson, et hémocultures positives au même germe.

4- Critères de non inclusion

Ne sont pas considérées comme infections nosocomiales acquises en réanimation:

- Les infections communautaires.
- Les infections acquises dans un autre service.
- Autres localisations non ciblées par la surveillance.
- Les colonisations et les contaminations des prélèvements.

5- collecte des données

Un staff hebdomadaire est organisé entre le microbiologiste et le réanimateur référent. Les résultats bactériologiques des prélèvements de patients à visée diagnostique sont discutés pour la validation de l'infection et du caractère nosocomial acquis dans le service réanimation.

Pour les patients non infectés inclus dans l'enquête, la même fiche de renseignement (annexe1) est remplie. Toutes les fiches sont complétées à la sortie des patients du service, et validées par le réanimateur référent.

Les données sont colligées à partir des :

- Fiches de renseignement accompagnant le prélèvement bactériologique (annexe N°1).
- Dossiers du patient, compte-rendu d'hospitalisation pour les données cliniques, registres des admissions du service réanimation médicale.

- Registres des prélèvements du service microbiologie, et le logiciel WHONET 5.5 pour les antibiogrammes (logiciel utilisé pour la saisie des résultats au laboratoire de Microbiologie).

II- Etude bactériologique :

Les prélèvements bactériologiques à visée diagnostic sont décidés et pratiqués par l'équipe médicale du service réanimation.

La conservation des prélèvements est faite à une température basse au réfrigérateur (+ 4 °C), exception faite pour le LCR (37°C), en attendant le transport vers le laboratoire de Microbiologie situé à l'hôpital Dr Dorban.

Le transport se fera le plus rapidement dans une glacière, tous les prélèvements sont accompagnés d'une fiche de renseignement.

1- Prélèvements bactériologique :

- 1- Les prélèvements bactériologiques à visée diagnostic : les prélèvements des patients hospitalisés en réanimation médicale sont réceptionnés et analysés au niveau du service Microbiologie de l'hôpital Dorban du CHU Annaba, distant de 6 Km du service réanimation.

Les prélèvements reçus au laboratoire sont : Prélèvement protégé distal (PPD) pour le diagnostic des PAVM, les urines, les hémocultures, les sondes urinaires, les cathéters centraux et périphériques, les ponctions et les pus divers.

Une fois au laboratoire, le prélèvement est enregistré et l'étude bactériologique est entamée.

- 2- Les Prélèvements d'environnement : Afin de connaître l'écologie du service et parallèlement à la surveillance des patients inclus dans notre étude, nous avons réalisé des prélèvements d'environnement du service réanimation.

Deux enquêtes bactériologiques sur l'environnement du service ont été réalisées les deux premières années (2009, 2010), une troisième en 2012. Ces prélèvements sont réalisés par le microbiologiste.

Les prélèvements ont intéressé certains sites, des instruments et des produits (le mobilier, le matériel, les solutions, lits, respirateurs, lavabos...) et les mains du personnel.

2- Techniques bactériologiques :

2-1- Etude cytot bactériologique des prélèvements bronchiques :

Le diagnostic microbiologique de la pneumopathie nosocomiale est assuré par la culture quantitative d'un prélèvement endo-bronchique protégé distal (PPD). Le seul prélèvement pratiqué dans le service pour le diagnostic des pneumopathies nosocomiales.

Après homogénéisation, le cathéter est ensemencé directement avec une anse calibrée de 10 µl sur une gélose au sang frais, un milieu pour bacilles à Gram négatif, une gélose au sang cuit. Une colonie représente 10² UFC/ml, le seuil est de 10 colonies ($\geq 10^3$ UFC/ml).

2-2- Etude cytot bactériologique des CVC :

La culture du CVC n'est pas systématique, indiquée devant des signes cliniques en faveur d'une infection liée au cathéter (ILC) à savoir un syndrome infectieux avec signes locaux d'inflammation.

La méthode de culture utilisée est celle de Brun Buisson : méthode quantitative, seuil de significativité est de 10³ UFC/ml, elle consiste à :

- Recueillir le cathéter central dans un 1 ml de sérum physiologique et vortexer pendant une minute.
- Ensemencer 10 µl du bouillon (sérum) sur gélose au sang. Incuber 24 à 48 heures à 37°C.
- Colonisation du cathéter si UFC > 1000/ml.

2-3- Hémoculture :

➤ Prélèvement :

Les prélèvements pour hémoculture sont effectués dans le milieu bouillon citrate.

Les prélèvements reçus sont enregistrés et incubés pendant 24 h.

➤ Technique d'analyse :

- Examen macroscopique des flacons :

Chaque jour ou mieux deux fois par jour, les flacons sont inspectés en vue de rechercher des signes témoignant d'une croissance visible.

-
- Examen microscopique :

Examen microscopique à l'état frais pour tous les prélèvements.

Examen après coloration : Gram et BM.

- Mise en culture et numération : milieux gélosés supplémentés en sang.
- Interprétation : éléments pris en compte
 - ✓ Critères de pathogénicité.
 - ✓ Nombre d'hémocultures positives :

La signification clinique augmente avec le nombre d'hémocultures positives :

- Différentes situations en faveur d'une étiologie bactérienne :
 - Plusieurs hémocultures positives avec le même germe.
 - Plusieurs hémocultures positives avec germes différents sur terrains particuliers.
 - Dès la première hémoculture si bactérie pathogène spécifique : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*...
- Contamination probable si une seule hémoculture avec une bactérie de la flore cutanéomuqueuse : *staphylococcus coagulase négative*, *bacillus spp*...

2-4- Etude cyto bactériologique des urines :

- **Prélèvement** : Nous avons traités les prélèvements suivants (urines de sondes, milieu du jet).

Les prélèvements reçus sont vérifiés par rapport à leur conformité, accompagnés de la demande d'examen correctement remplie et comportant les renseignements médico-administratifs nécessaires à l'interprétation de l'examen.

- **Technique d'analyse :**

- Examen macroscopique :

Consiste à noter l'aspect : clair, trouble, purulent, hématique...des urines.

- Examen microscopique :

Examen microscopique à l'état frais pour tous les prélèvements.

Examen après coloration : cet examen n'est pas fait systématiquement

- Mise en culture: les milieux utilisés sont
 - ✓ Gélose nutritive
 - ✓ Hecktoen
 - ✓ Gélose au sang si l'examen direct retrouve des cocci à Gram positif en chainettes.
- Numération et interprétation de la bactériurie quantitative
 - 10^3 UFC/ml : absence de bactériurie quantitative.
 - 10^5 UFC/ml : infection probable.
 - Entre 10^3 et 10^5 UFC/ml : l'interprétation se fait au cas par cas selon le résultat de l'examen direct (leucocyturie et le mode de prélèvement...).

3- Identification bactérienne :

- Identification des bactéries par : galerie biochimique classique, galerie API, VITEK2, et par MALDI-TOF.

Tableau 3 : exemple score d'identification bactérienne obtenue par MALDI-TOF

2459 (+)(C)	P11	Raoultella ornithinolytica	2.256
2459 (+)(C)	P10	Raoultella ornithinolytica	2.154
2459 (+)(C)	P9	Raoultella ornithinolytica	2.044

L'identification par VITEK2, et par MALDI-TOF a été effectuée au niveau de l'unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergents (URMITE), CNRS-IRD, UMR 6236, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de la Méditerranée Aix-Marseille II, France.

- Identification des levures a été faite par un test de germination ou une galerie auxacolor.

4- Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

- **Antibiogrammes** : recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institut).
- **Tests complémentaires** : (annexe 2).
 - Recherche de la résistance des *Staphylococcus sp* à l'oxacilline :
 - Pour le *S.aureus*, le disque de cefoxitine est comparable à celui de l'oxacilline pour détecter la résistance à l'oxacilline par production de la PLP2a (gène MecA)
 - Tests de détection de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) pour les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* :
 - ✓ Test de synergie.
 - ✓ Test de confirmation par double disque.



Figure 1: test de synergie pour confirmation de BLSE réalisé au cours de notre étude.

- ✓ Test à la cloxacilline.
- Détection des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par utilisation des bandelettes E test, et par l'automate d'identification et d'antibiogramme (VITEK2)

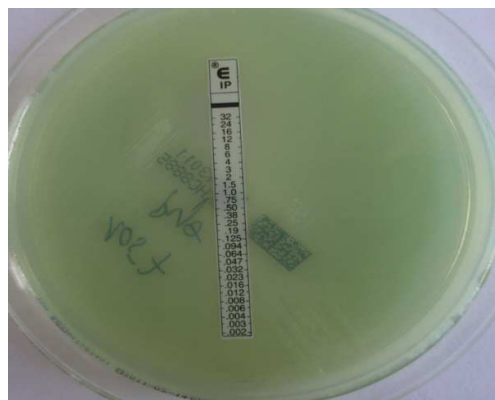


Figure 2 : E test imipenème de *Pseudomonas aeruginosa*

5- Etude moléculaire :

5-1 Entérobactéries :

- Caractérisation moléculaire par séquençage des gènes BLSE pour entérobactéries :
 - PCR pour détection *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}*.
 - Extraction de l'ADN
 - Purification des produits de PCR et séquençage (les séquences nucléotidiques et protéiques obtenues sont analysées par the BLAST and FASTA programs of the National Center for Biotechnology Information et par le programme the TEM and SHV β-lactamase database.
- Détection de la résistance à l'imipénème : PCR *bla_{NDM-1}* (New Delhi métallo-enzyme).
- Amorces utilisées :

Tableau 4 : liste des amorces.

Amorce	séquence
TEM Szabo R	TTACCAATGCTTAATCAGTGAG
TEM Szabo F	ATGAGTATTCAACATTTCCGTG
SHV Szabo R	TTTATGGCGTTACCTTTGACC
SHV Szabo F	ATTTGTCGCTTCTTTACTCGC
CTX Szabo R	TCACKCGGRTCGCCNGGRAT
CTX Szabo F	TGTGCAGYACCAGTAARGTKATGGC
NDM-F	GGAATTGCCCAATATTATGCAC
NDM-R	GGCCGTATGAGTGATTGCG

5-2 *Acinetobacter baumannii* :

- PCR pour detection *bla_{OXA23}*, *bla_{OXA24}*, *bla_{oxa51/ISABA}* *bla_{oxa58}*, *bla_{NDM-1}*.
- Amorces utilisées :

Tableau 5 : amorces pour typage des carbapénèmase *Acinetobacter baumannii*.

Amorce	Séquence
OXA-51-likeF	TAATGCTTTGATCGGCCTTG
OXA-51-likeR	TGGATTGCACTTCATCTTGG
Oxa10-F	TTGTCAATGCCACCACTGAT
Oxa10-R	GAAAGCCAAGAGCCATGAAG
OXA23-F	GATCGGATTGGAGAACCAGA
OXA23-R	ATTTCT GACCGCATT TCCAT
OXA24-F	GGT TAGTTG GCCCCCTTAAA
OXA24-R	AGT TGA GCG AAA AGG GGATT
OXA58-F	AAG TATTGG GGC TTG TGCTG
OXA58-R	CCC CTC TGC GCT CTA CAT AC
NDM-F	GGAATTGCCCAATATTATGCAC
NDM-R	GGCCGTATGAGTGATTGCG

5-3-Conditions PCR :

Tableau 6 : conditions de PCR.

	Dénaturation initiale	Dénaturation/hybridation/ élongation	Nombre cycles	Extension final
PCR: CTX-M/SHV/TEM	15 min à 90°C	1 min à94°C/50 sec à55°C/1 min à 72°C	35 cycles	7 min à 72°C
Séquençage: CTX-M/SHV/TEM	2 min à 96°C	1 min à96°C/5 sec à 50°C/4 min à 60°C	25 cycles	4°C
PCR : NDM-1	15 min à 95°C	1 min à94°C/50 sec à55°C/1 min à 72°C	35 cycles	7 min à 72°C
PCR: OXA-23/OXA-24/OXA51/ISAbA/OXA-58/ OXA-10	15 min à 95°C	1 min à94°C/50 sec à50°C/1 min à 72°C	35 cycles	7 min à 72°C

5-4-*Staphylococcus aureus* :

- PCR en temps réel pour détection du gène Mec A de la résistance à l'oxacilline.
- PCR en temps réel pour la toxine Penthon Valentine (PVL) et la toxine du syndrome du choc toxique (TSST)

Tableau 7: liste des amorces utilisées.

Amorce	Séquence
MecA-F	GTA GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATA A
MecA-R	GTA GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATA
PVL-F	TCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA
PVL-R	GCA TCA AGT GTA TTGGATAGCAAAAGC
TSST-F	ATGGCAGCATCAGCTTGATA
TSST-R	TTTCCAATAACCACCCGTTT

III- Analyse statistique :

Tous les cahiers d'observation des patients ayant fait l'objet de la surveillance pour infection nosocomiale sont saisis de façon informatique. Les données sont saisis au moyen du logiciel Epidata analysisV2.2..164 et Excel 2007, et analysées au moyen du logiciel Epi info version 2000.

1- Statistiques descriptives :

Plusieurs taux d'infection seront calculés, les fréquences simples et les fréquences relatives (pourcentages) pour les variables qualitatives, ainsi que les moyennes, les écarts-types et la détermination de l'étendu (minimum et maximum) pour les variables quantitatives.

Calcul des taux d'incidence et densité d'incidence :

- Taux d'incidence des infections nosocomiales : rapport du nombre d'infections acquises dans le service sur le nombre d'admissions.
- Taux d'incidence des pneumopathies nosocomiales chez les patients ventilés.
- Taux d'incidence des infections urinaires nosocomiales chez les patients sondés.
- Taux d'incidence des bactériémies liées ou non au cathéter veineux central.
- Taux de densité d'incidence des infections nosocomiales : rapport du nombre d'infections nosocomiales acquises en réanimation sur le nombre de jours-malades et multiplié par 1000.
- Taux de densité d'incidence des pneumopathies pour 1000 jours de ventilation.
- Taux de densité d'incidence des infections urinaires pour 1000 jours de sondage.
- Taux de densité d'incidence des infections sur cathéter pour 1000 jours de cathétérisme central.

2- Statistiques analytiques :

Etude de la liaison entre les différentes variables :

- **Le test X^2** d'indépendance a pour but de contrôler l'indépendance statistique de deux ou plusieurs critères de classification quantitatifs.
- **Le test de Student** consiste à comparer les moyennes de deux populations à l'aide des données de deux échantillons indépendants

Le seuil de signification a été fixé dans tous les cas à 0,05.

Les limites de notre étude sont:

- 1- Les limites de la surveillance à partir du laboratoire de microbiologie, c'est à dire le risque de sous estimer les infections nosocomiales par une absence de détection des infections qui ne font pas l'objet de prélèvements à visée diagnostique et des infections donnant des cultures négatives. Les cas retenus ont été validé par les réanimateurs.

Résultats :

I-Caractéristiques épidémiologiques des infections nosocomiales en réanimation :

1-Incidence des infections nosocomiales :

Entre le 1^{er} janvier 2009 et 31 décembre 2011, 2913 patients ont été admis en réanimation médicale. **885 patients ont séjourné plus de 48 heures (30.65 %), leur durée de séjour est de 10612 jours ;** Parmi lesquels, 149 ont développés durant leur séjour en réanimation 205 infections nosocomiales.

L'incidence des infections nosocomiales en réanimation est de **16.83 % soit 14.04 infection nosocomiale / 1000 jours en réanimation (885/10612).**

2-Caractéristiques des patients :

Les caractéristiques épidémiologiques des patients sont présentées dans le tableau 8.

Tableau 8 : caractéristiques épidémiologiques des patients admis en réanimation.

Caractéristiques des patients		Infecté N : 149	Non infecté N : 736	Total N : 885	P
sexe H/F		80/69	357/379	437/448	NS
sexe ratio		1.15	0.94	0.97	
Age		46 ±17,8	46 ±19,9	46 ±19,6	NS
Min		16	16	16	
Max		92	95	95	
Motif d'hospitalisation	Neurologique	93	311	404	
	Pulmonaire	25	107	132	
	Cardiaque	11	100	111	
	Acidocétose	12	55	67	
	Toxicologie	1	107	108	
	Infectieux	0	29	29	
	Autres	7	27	34	
IGS II		47,5	38,3		0,0001 IC 95% :(5,01- 13,28)
Durée de séjour		27.8 ± 33,9	8.8 ± 7,9	11,9	0,0001 IC 95% (16,26 -21,80)
Décès (N) (%)		101 (67.78 %)	276 (37.5 %)	377 (42.59 %)	0,0001

3-Répartition des patients selon l'âge :

Tableau 9: Répartition des patients selon les tranches d'âge.

Tranches d'âge (année)	Infecté N (%)	patient non infecté N(%)	p
15-30	37 (14,8%)	215 (85,2%)	
31-45	37 (19,4%)	155 (80,6%)	
46-60	38 (18,5%)	168 (81,5%)	NS
>60	37 (15,8%)	198 (84,2%)	
Total	149	736	

Toutes les tranches d'âge sont touchées par les infections nosocomiales. L'âge moyen des patients infectés est de $46 \pm 17,8$ ans, avec des extrêmes allant de 15 ans à 92 ans.

4-Répartition des patients admis en réanimation selon l'exposition aux dispositifs invasifs.

La répartition des patients exposés aux dispositifs invasifs est portée sur le tableau N° 10

Tableau 10 : Exposition des patients aux dispositifs invasifs :

Dispositif invasif	Nombre	%
Sondage urinaire	760	85,87%
Intubation	513	57,96 %
Cathétérisme veineux central	144	16,27 %

L'exposition au dispositif invasif est fréquente en réanimation, 85 % des patients ont été sondés durant leur séjour, 57 % ont été intubés et ventilés et seulement 16,27% ont bénéficié d'un cathétérisme veineux central.

5-Répartition des patients selon la durée d'exposition aux dispositifs invasifs.

Tableau 11 : Durée d'exposition des patients aux dispositifs invasifs.

Exposition en jours	N	moyenne	± DS	médiane	Inter quartile 25%-75%
Durée de séjour	10612	11.9	17,24	4	3-13
Durée de VM	5875	11.4	18.18	6	4-12
Durée de sondage	8975	11,8	16.19	7	4-13
Durée de cathétérisme	1594	11.1	9.26	9	6-13

6-Répartition selon le ratio d'exposition aux dispositifs invasifs (REDI)

Tableau 12: Ratio d'exposition au dispositif invasif.

Dispositif invasif	Patient exposé	Ratio exposition
Ventilation invasive	57.96 %	0,55
Sonde urinaire	85.87%	0.84
Cathéter veineux central	16.27 %	0.15

7-Répartition des IN acquises dans le service réanimation en fonction du site infecté :

La répartition des IN acquises en réanimation médicale est signalée sur le tableau 13.

Tableau 13: répartition des IN acquises en réanimation.

Type d'infection	Nombre
Pneumopathie	137 (66,82%)
Infection urinaire	45 (21,95)
Bactériémie	17 (8,29%)
Bactériémies liée au cathéter	6 (2,92%)
Total	205 (100%)

Les pneumopathies nosocomiales (PAVM) sont les infections les plus prédominantes avec 66.82 % des infections suivies des infections urinaires et des bactériémies nosocomiales (liée ou non au cathéter veineux central) avec 21.95 % et 11.21 % respectivement.

8 -Répartition des patients selon le nombre d'épisode d'infection nosocomiale durant le séjour en réanimation médicale :

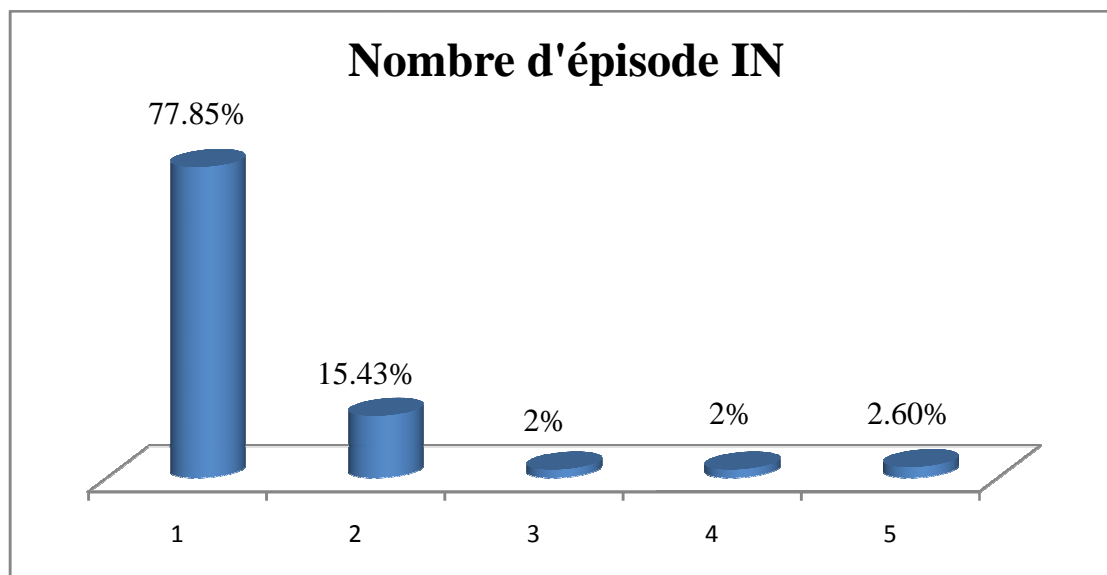


Figure 3: Nombre d'épisode IN au cours du séjour des patients en réanimation.

116 patients (sur les 149 soit 77.85 %) ont développé un seul épisode d'infection nosocomiale durant leur séjour en réanimation, 23 patients (sur les 149 soit 15,4%) ont acquis deux épisodes infectieux.

4 patients (2,6 %) ont développés 5 épisodes infectieux durant leur séjour en réanimation

9-Répartition des infections nosocomiales selon leur délai d'apparition

Tableau 14: Délai de survenue des infections nosocomiales

Infection	Délai après exposition au dispositif (moyenne en jours)
Pneumopathie	8,39 ± 5,05
Infection urinaire	14,55 ± 4,04
Bactériémie	10,42 ± 2,65
Bactériémieliée au cathéter	13,5± 2,34

10-Répartition des PAVM selon le délai d'apparition :

Le délai d'apparition des PAVM est reporté dans le tableau N°36.

Tableau 15 : délai de survenue des PAVM.

Délai de survenue	Nombre (%)
Précoce ≤ 5 j	39 (27,74 %)
Tardive > 5 j	98 (72,26 %)
Total	137 (100%)

98 des PAVM (sur les 137 épisodes de pneumopathies soit 72.26 %) sont tardives survenant après le 5eme jour de ventilation mécanique.

11-Répartition des bactériémies selon la porte d'entrée.

Tableau 16: Répartition des bactériémies selon la porte d'entrée :

Origine	Nombre
Cathéter veineux central	6
Poumon	6
Urines	3
Inconnue patient avec CVC	3
Inconnue patient sans CVC	5
Total	23

CVC : cathéter veineux central.

Les portes d'entrée retrouvées pour les bactériémies nosocomiales sont représentées par les voies vasculaires (6), les pneumopathies (6) et les infections urinaires (3).

12-Evolution de la consommation des antibiotiques en réanimation

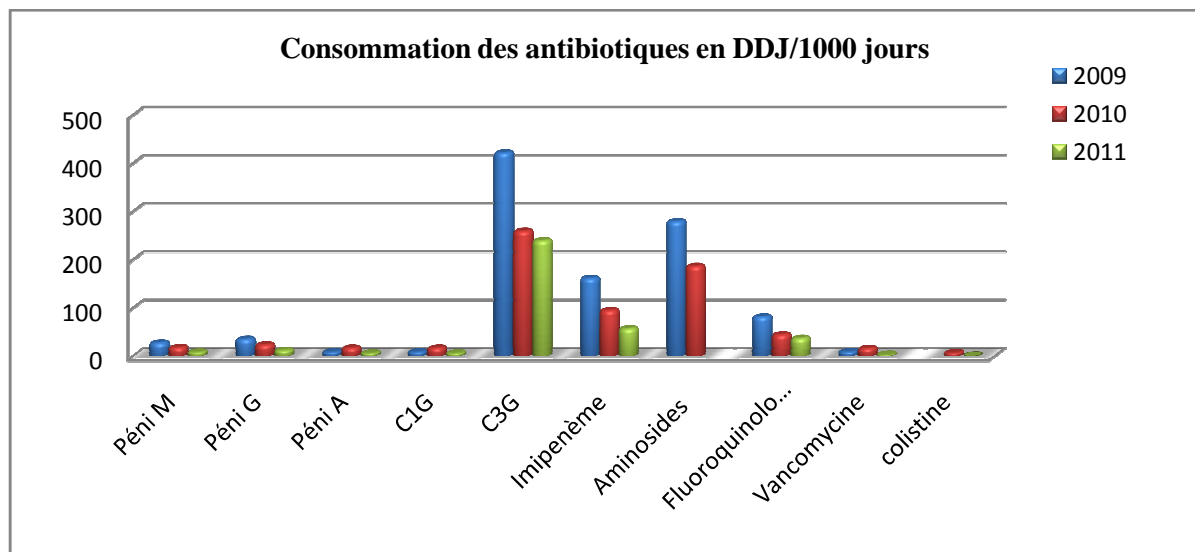


Figure 4 : consommation des antibiotiques en réanimation médicale.

Les C3G, l'imipenème, les fluoroquinolones et les aminosides sont les principaux antibiotiques utilisés en réanimation, avec une tendance à la baisse de la consommation des principaux antibiotiques au cours des trois années.

(Le calcul des DDJ a été fait à partir du **registre de la pharmacie du service réanimation** où sont mentionnées pour chaque mois les quantités consommées (entrées et les sorties). Les DDJ pour les aminosides en 2011, et DDJ colistine 2009 n'apparaissent pas sur cette figure, les quantités consommées n'ont pas été reportées sur le registre du service).

13- Coût engendré par l'allongement de la durée de séjour secondaire aux IN.

Les infections nosocomiales seraient responsables d'un allongement de séjour de **2831 jours**, avec un surcoût engendré de **40781460 DA** (2831 X 14405.32 DA), **ce qui représente 26 % des dépenses du service réanimation.** Les dépenses sont rapportées dans le tableau N° 17.

Tableau 17: Coût engendré par l'allongement de la durée de séjour.

	patient infecté (N : 149)
Allongement durée séjour / patient	19 jours
Coût journée d'hospitalisation (DA)	14405,32
Durée totale allongée (tous les patients avec IN)	2831
Coût lié à l'allongement durée séjour IN	40781460,92
Coût total (DA)	152867982,00

II- Etude bactériologique :

1-Enquête d'environnement : Germes isolés dans le service

Tableau 18 : Germes isolés dans service réanimation

Prélèvement	Nombre de prélèvement par enquête	Germes isolés (nombre)		
		2009	2010	2012
Lit patient	4	<i>P. aeruginosa</i> (2) <i>K.pneumoniae</i> (2) <i>Bacillus</i> (2)	<i>Entérocoque</i> (1) <i>Bacillus</i> (3) <i>SCN</i> (2)	<i>A.baumannii</i> (1) <i>E.coli</i> (2) <i>S.aureus</i> (2)
Table de lit patient	4	<i>P. aeruginosa</i> (2) <i>A.baumannii</i> (1) <i>Bacillus</i> (1) <i>SCN</i> (2)	<i>Entérocoque</i> (1) <i>Bacillus</i> (3) <i>SCN</i> (2)	<i>A.baumannii</i> (1) <i>E.coli</i> (2) <i>S.aureus</i> (1) <i>k.pneumoniae</i> (1)
Poignet de porte	4	<i>P. aeruginosa</i> (2) <i>SCN</i> (2) <i>Bacillus</i> (2)	<i>SCN</i> (4) <i>Bacillus</i> (2)	<i>SCN</i> (4) <i>Microcoques</i> (2)
Robinet	4	<i>P. aeruginosa</i> (1) <i>E.coli</i> (1) <i>Bacillus</i> (3)	<i>Bacillus</i> (4) <i>SCN</i> (2) <i>Microcoques</i>	<i>S.marcescens</i> (1) <i>Bacillus</i> (1) <i>SCN</i> (1)
Paillasse	4	<i>P. aeruginosa</i> (1) <i>SCN</i> (2) <i>Bacillus</i> (4)	<i>k.pneumoniae</i> (1) <i>SCN</i> (4) <i>Bacillus</i> (4)	<i>A.baumannii</i> (1) <i>E.coli</i> (1) <i>Bacillus</i> (2)
Chariot de soin	2	<i>P. aeruginosa</i> (1) <i>Bacillus</i> (2) <i>SCN</i> (1)	<i>K.pneumoniae</i> (1) <i>SCN</i> (2) <i>Microcoques</i> (1)	<i>A.baumannii</i> (1) <i>E.coli</i> (1) <i>S.aureus</i> (1)
Tambour à compresse	2	<i>SCN</i> (1) <i>Bacillus</i> (2)	<i>S.aureus</i> (1) <i>Microcoques</i> (2)	<i>S.aureus</i> (1) <i>Bacillus</i> (1)
Tambour à coton	1	<i>A.baumannii</i> (1)	<i>SCN</i> (1)	<i>SCN</i> (1)

Porte pince	2	SCN (2)	<i>E.coli</i> (1) <i>Bacillus</i>	SCN (2)
Pince	2	SCN (2)	<i>K.pneumoniae</i> (1) SCN (1) <i>Bacillus</i> (1)	SCN (1)
Compresse	1	Culture négative	Culture négative	Culture négative
Les antiseptiques	6	Culture négative	Culture négative	Culture négative
Respirateur	4	<i>P. aeruginosa</i> (2) <i>Bacillus</i> (1) Moisissures SCN (1)	<i>Bacillus</i> (2) Microcoques (2)	<i>A.baumannii</i> (1) <i>E.coli</i> (2) <i>S.aureus</i> (1)
Scope	4	Microcoques (2) <i>Bacillus</i> (3)	<i>E.coli</i> (1) SCN (3) <i>Bacillus</i> (3)	<i>S.aureus</i> (1) <i>Bacillus</i> (2) SCN (1)
Masque à O2	2	<i>Bacillus</i> (2)	<i>K.pneumoniae</i> (1) SCN (1)	<i>S.aureus</i> (1) <i>A.baumannii</i> (1)
Pousse seringue	4	SCN (3) <i>Bacillus</i> (4)	<i>S.aureus</i> <i>Bacillus</i> (3)	SCN (2) <i>Bacillus</i> (2)
Les mains du personnel	8	<i>P. aeruginosa</i> (1) <i>E.coli</i> (1) <i>Bacillus</i> (2) SCN (6)	<i>E.coli</i> (1) <i>Bacillus</i> (2) SCN (6)	<i>E.coli</i> (1) <i>S.aureus</i> (1) SCN (6)
Siphon	4	<i>P. aeruginosa</i> (1) <i>E.coli</i> (1) <i>K.pneumoniae</i> (1)	<i>E.coli</i> (1) <i>P.aeruginosa</i> (1) <i>K.pneumoniae</i> (2) <i>P.mirabilis</i> (1)	<i>E.coli</i> (1) <i>K.pneumoniae</i> (1) <i>P. aeruginosa</i> (1)
Air	1	<i>Bacillus</i> Moisissures	<i>Bacillus</i> Moisissures	<i>Bacillus</i> Moisissures

2-Germes isolés dans l'environnement du service réanimation médicale

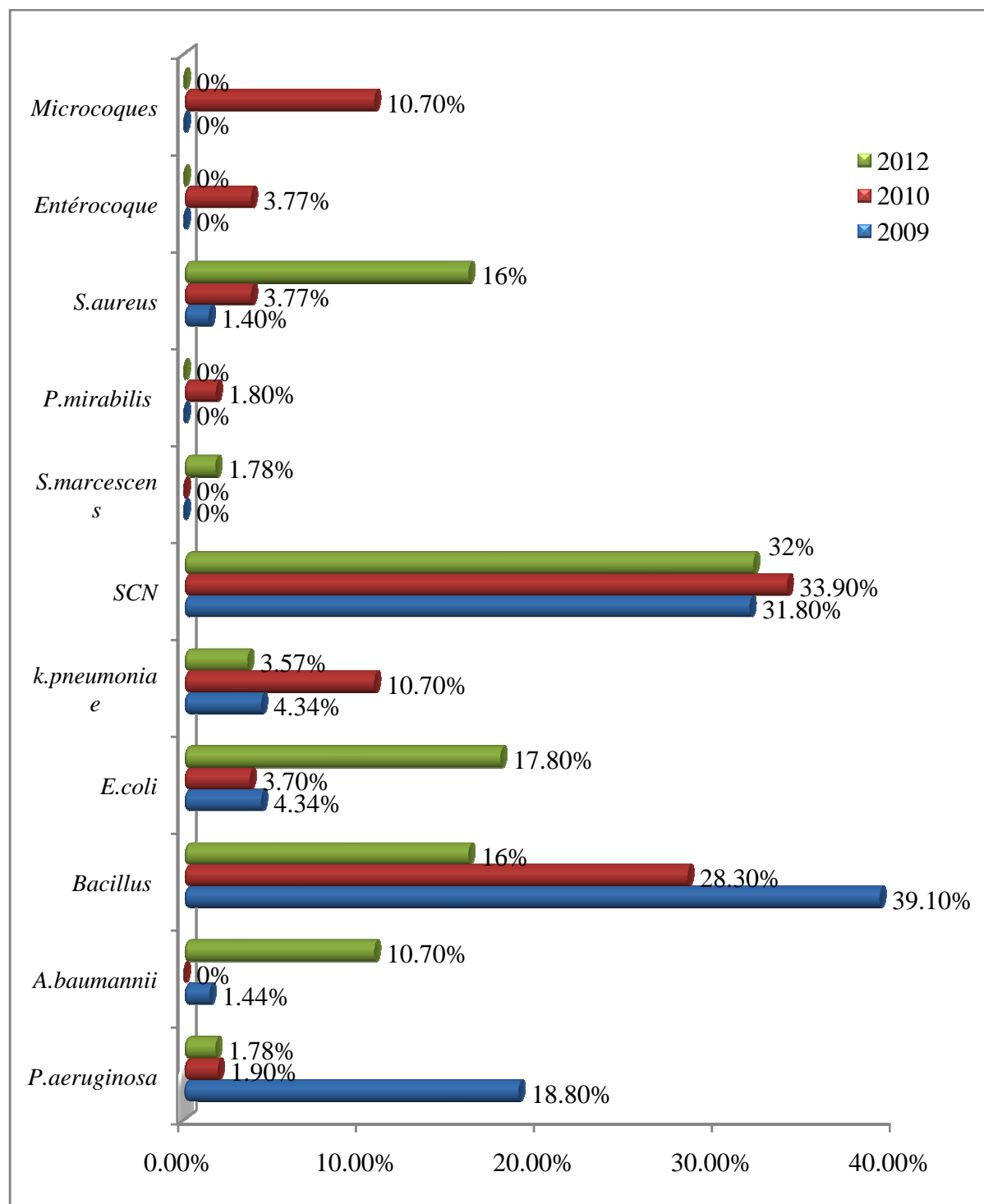


Figure 5: germes isolés dans l'environnement du service réanimation médicale.

3-Répartition des germes isolés des IN :

- Durant notre étude, **869 prélèvements à visée diagnostique ont été analysés** au niveau du laboratoire de microbiologie, et qui se répartissent comme suit :
 - **279 PPD,**
 - **329 urines,**
 - **237 hémocultures,**
 - **24 CVC.**

- **205 épisodes d'infections nosocomiales** acquises dans le service de réanimation médicale ont été retenus sur les 869 prélèvements, **soit 23,6% (205/869).**

- **261 bactéries et 5 *Candida sp*** ont été isolés :
 - 232 bacilles à Gram négatif 261 soit 87,2 %,
 - 29 cocci à Gram positif soit 10,9%.
 - 5 *Candida sp* soit 1,9 %.

La répartition des germes isolés est rapportée dans le tableau 19 de la page 91.

Tableau 19: Germes isolés des infections nosocomiales acquises en réanimation

Germes isolés	N (%)
Bactéries à Gram positif	29 (10.9 %)
<i>Staphylococcus aureus</i>	26 (9,7%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	2 (0,8%)
<i>Enterococcus faecium</i>	1 (0,4%)
Bactéries à Gram négatif	232 (87,2%)
<i>E.coli</i>	21 (7,9%)
<i>Proteus mirabilis</i>	10 (3,7%)
<i>Proteus vulgaris</i>	1(0,4%)
<i>Klebsiella.sp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 64 (24 %)
	<i>Klebsiella oxytoca</i> 2 (0,8%)
Entérobactéries	<i>Raoultella ornithinolytica</i> 2 (0,6%)
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> 12 (4,5%)
	<i>Enterobacter aerogenes</i> 1(0,4%)
	<i>Serratia marcescens</i> 2 (0,8%)
	<i>Morganella morganii</i> 3 (1,1%)
	<i>Providencia stuarti</i> 1(0,4%)
	<i>Acinetobacter baumannii</i> 55 (20,6%)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 51 (19,2%)
Autres BGN	<i>Burkholderia cepacia</i> 4 (1,6%)
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 1(0,4%)
	<i>Haemophilus influenzae</i> 2 (0,8%)
Candida	5 (1,9%)
	<i>Candida albicans</i> 3 (1,1%)
	<i>Candida glabrata</i> 1(0,4%)
	<i>Candida tropicalis</i> 1(0,4%)

Les bacilles à Gram négatif sont les germes prédominants (87,2%), avec respectivement *Klebsiella pneumoniae*(24%),*Acinetobacter baumannii*(20,6%) et *Pseudomonas aeruginosa*(19,2%).

4-Répartition des germes isolés des PAVM

Les germes isolés des PAVM sont rapportés dans le tableau 20.

Tableau 20: Germes isolés des PAVM acquises en réanimation

Germes isolés	N (%)
Bactéries à Gram positif	21 (11,5 %)
<i>Staphylococcus aureus</i>	21 (11,5%)
Bactéries à Gram négatif	161 (88,5%)
<i>E.coli</i>	4 (2,2%)
<i>Proteus mirabilis</i>	3 (1,6%)
<i>Proteus vulgaris</i>	1 (0,5%)
<i>Klebsiella.sp</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	29 (16,6%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 (0,5%)
Entérobactéries	
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2 (1%)
<i>Enterobacter</i>	
<i>Enterobacter cloacae</i>	8 (4,5%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0 (0%)
<i>Serratia marcescens</i>	1 (0,5%)
<i>Morganella morganii</i>	2 (1 %)
<i>Providencia stuarti</i>	1 (0,5%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	55 (30,2%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47 (25,8%)
Autres BGN	
<i>Burkholderia cepacia</i>	4 (2,2%)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (0,5%)
<i>Haemophilus influenzae</i>	2 (1%)

4 germes sont prédominants au cours des PAVM avec respectivement *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *S.aureus*.

5-Fréquence des germes isolés en fonction du type de PAVM (précoce ou tardive)

Les figures 6 et 7 représentent les germes isolés en, fonction du type de la PAVM précoce ou tardive.

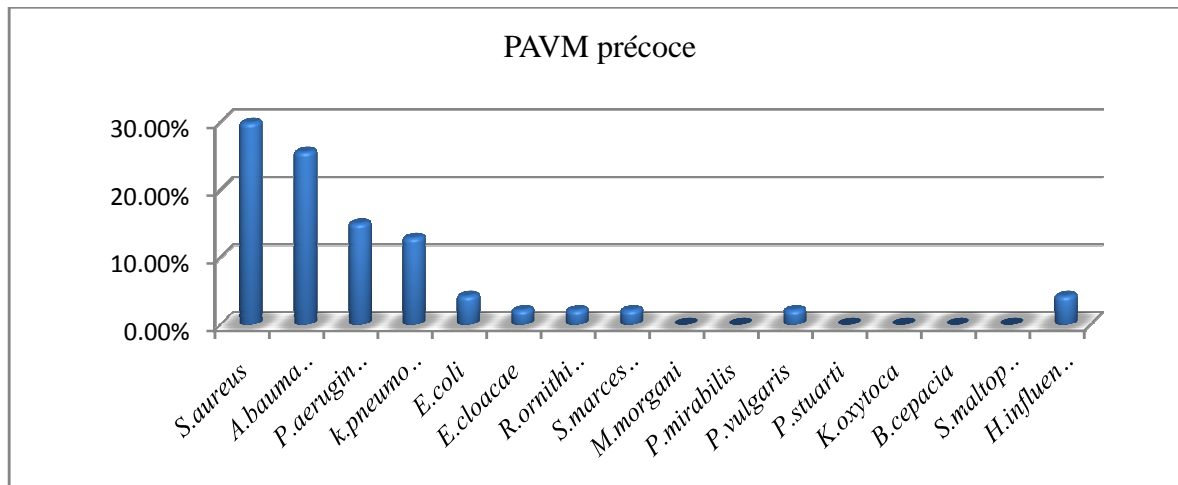


Figure 6: répartition des germes isolés au cours des PAVM précoces.

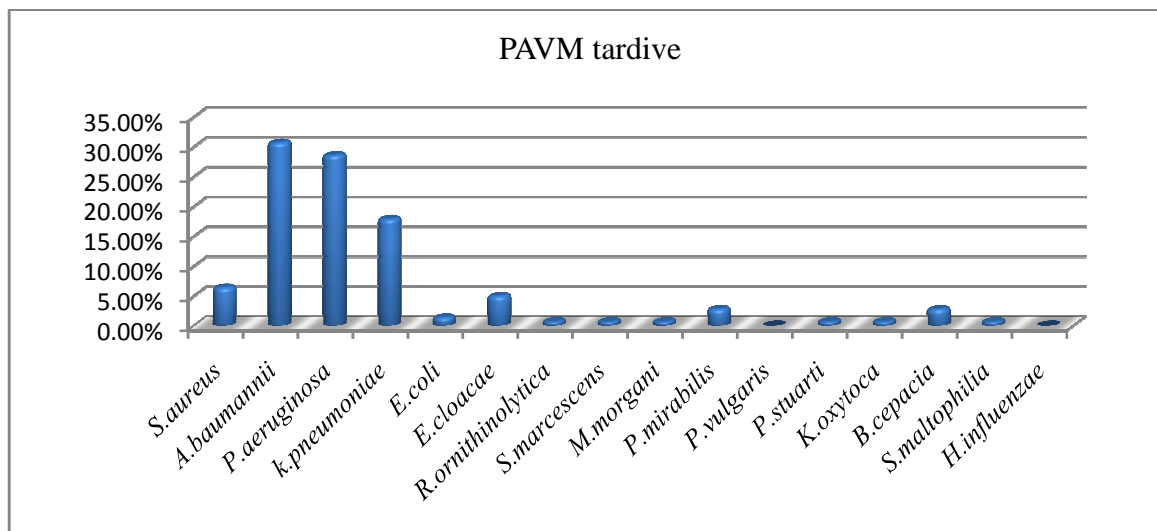


Figure 7: répartition des germes isolés au cours des PAVM tardives.

Qu'elles soient précoces ou tardives, 4 germes sont prédominants au cours des PAVM avec respectivement *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *S.aureus*.

6-Répartition des germes isolés des IUN :

Les germes isolés des IUN sont présentés dans le tableau 21.

Tableau 21 : Germes isolés des IUN acquises en réanimation

Germes isolés	N (%)
Bactéries à Gram positif	4 (6,5%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 (1,6%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	2 (3,3%)
<i>Enterococcus faecium</i>	1 (1,6%)
Bactéries à Gram négatif	53 (85,5%)
<i>E.coli</i>	15 (24,2%)
<i>Proteus mirabilis</i>	6 (9,6%)
<i>Klebsiella.sp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 23 (37,1%)
	<i>Klebsiella oxytoca</i> 1 (1,6%)
Entérobactéries	<i>Enterobacter cloacae</i> 2 (3,2%)
	<i>Enterobacter aerogenes</i> 1 (1,6%)
	<i>Serratia marcescens</i> 1 (1,6%)
	<i>Morganella morganii</i> 1 (1,6%)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 3 (4,8%)
Candida	5 (8 %)
<i>Candida albicans</i>	3 (4,8%)
<i>Candida glabrata</i>	1 (1,6%)
<i>Candida tropicalis</i>	1 (1,6%)

Klebsiella pneumoniae et *E.coli* sont fréquemment isolées des IUN et sont responsables de 60,3%.

6-Répartition des germes isolés des bactériémies nosocomiales :

Tableau 22: Germes isolés au cours des bactériémies nosocomiales acquises en réanimation

Germe isolé	Nombre (%)
Cocci à Gram positif	
<i>Staphylococcus aureus</i>	3
BGN entérobactéries	
<i>E.coli</i>	2
<i>K.pneumoniae</i>	7
<i>E.cloacae</i>	2
<i>P.mirabilis</i>	1
BGN non fermentaires	
<i>P.aeruginosa</i>	1

Les BGN sont les germes les plus isolés des bactériémies avec une prédominance de *Klebsiella pneumoniae*. Une bactériémie est à culture négative.

Répartition des germes isolés des BLC

Tableau 23: Germes isolés des BLC acquises en réanimation.

Germe isolée	Nombre (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 (16,7%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 (83,3%)
Total	6 (100%)

5 BLC sont dues à *Klebsiella pneumoniae*.

III- Résistance aux antibiotiques des germes isolés

La résistance du genre *Klebsiella* avec ses deux espèces *pneumoniae* et *oxytoca* est présentée dans les tableaux 24 et 25 respectivement

1- aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*

Tableau 24: Résistance aux antibiotiques des souches *Klebsiella pneumoniae* isolées en fonction du site du prélèvement

<i>Klebsiella pneumoniae</i> (N : 64)				
	PPD (N : 29)	Urine (N : 23)	Hémoculture (N : 7)	BLC (N : 5)
	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)
CZ	24 (82,7%)	22 (95,6%)	5 (71,4%)	5 (100%)
FOX	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
CTX	20 (68,9%)	22 (95,6%)	5 (71,4%)	5 (100%)
CRO	20 (68,9%)	22 (95,6%)	5 (71,4%)	5 (100%)
ATM	20 (68,9%)	22 (95,6%)	5 (71,4%)	5 (100%)
CAZ	20 (68,9%)	22 (95,6%)	5 (71,4%)	5 (100%)
AMC	24 (82,7%)	22 (95,6%)	5 (71,4%)	5 (100%)
TTC	20 (68,9%)	22 (95,6%)	5 (71,4%)	5 (100%)
TZP	1 (3,4%)	2 (8,7%)	0 (0%)	0 (0%)
IMP	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ERT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
GN	22 (75,8%)	19 (82,6%)	5 (71,4%)	1 (20%)
AN	15 (51,7%)	12 (52,2%)	4 (57,1%)	1 (20%)
TB	22 (75,8%)	19 (82,6%)	5 (71,4%)	1 (40%)
K	22 (75,8%)	23 (100%)	5 (71,4%)	2 (40%)
NET	6 (20,6%)	12 (52,2%)	2 (28,6%)	0 (0%)
NAL	16 (55,1%)	19 (82,6%)	5 (71,4%)	3 (60%)
PEF	12 (41,4%)	17 (73,9%)	4 (57,1%)	1 (20%)
CIP	8 (27,8%)	11 (47,8%)	3 (42,8%)	1 (20%)
SXT	6 (20,6%)	20 (87%)	6 (85,7%)	2 (40%)
TETR	6 (20,6%)	22 (95,6%)	4 (57,1%)	2 (40%)
CS	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
FT	6 (20,6%)	14 (60,8%)	2 (28,6%)	2 (40%)
C	4 (13,8%)	7 (30,4%)	3 (42,8%)	2 (40%)

2-Résistance aux antibiotiques de *Klebsiella oxytoca*

Tableau 25 : Résistance aux antibiotiques des souches *Klebsiella oxytoca* isolées en fonction du site du prélèvement

<i>Klebsiella oxytoca</i> (N : 2)		
	PPD (N : 1)	Urine (N : 1)
	R (%)	R (%)
CZ	1 (100%)	1 (100%)
FOX	0 (0%)	0 (0%)
CTX	1 (100%)	1 (100%)
CRO	1 (100%)	1 (100%)
ATM	1 (100%)	1 (100%)
CAZ	1 (100%)	1 (100%)
AMC	1 (100%)	1 (100%)
TCC	1 (100%)	1 (100%)
TZP	0 (0%)	0 (0%)
IMP	0 (0 %)	0 (0 %)
ERT	0 (0 %)	0 (0 %)
GN	1 (100%)	1 (100%)
AN	1 (100%)	1 (100%)
TB	1 (100%)	1 (100%)
K	1 (100%)	1 (100%)
NET	0 (0%)	0 (0%)
NAL	1 (100%)	1 (100%)
PEF	1 (100%)	1 (100%)
CIP	1 (100%)	0 (0%)
SXT	1 (100%)	1 (100%)
TETR	1 (100%)	0 (0%)
CS	0 (0%)	0 (0%)
FT	1 (100%)	1 (100%)
C	1 (100%)	0 (0%)

Fréquence des phénotype de résistance des isolats de *Klebsiella sp* aux antibiotiques.

Tableau 26 : Fréquence des phénotypes de résistance des isolats *Klebsiella sp* aux antibiotiques.

ATB	Phénotype	<i>Klebsiella pneumoniae</i> N : 64	<i>Klebsiella oxytoca</i> N : 2
B-lactamines	Sauvage	8 (12,5 %)	0 (0 %)
	BLSE	52 (81,25 %)	2 (100 %)
	CHN	0 (0 %)	0 (0 %)
	PHN	4 (6,25 %)	0 (0 %)
Aminosides	Sauvage	12 (18,7%)	0 (0%)
	K	5 (7,8%)	0 (0%)
	GKT	11 (17,2%)	0 (0%)
	GKTA	16 (25%)	2 (100%)
	GKTNét	4 (6,25%)	0 (0%)
	GKTANét	16 (25%)	0 (0%)
Fluoroquinolones	Sauvage	21 (32,9%)	0 (0 %)
	NAL	9 (14,1%)	0 (0 %)
	NAL PEF	11 (17,1%)	1 (50 %)
	NAL PEF CIP	23 (35,9%)	1 (50%)

Fréquence d'isolement *Klebsiellapneumoniae* au cours de la période de surveillance des IN

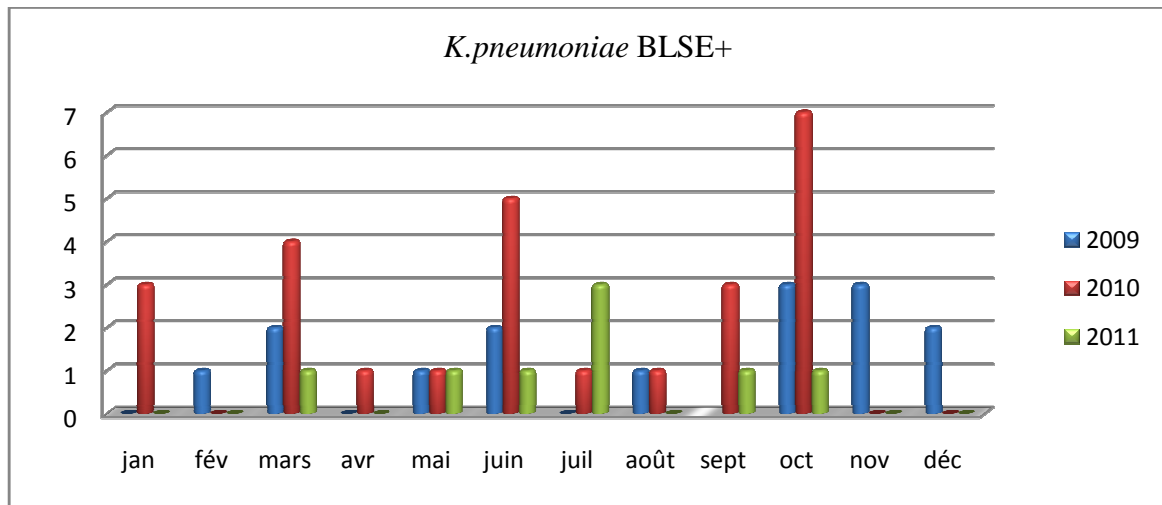


Figure 8 :Fréquence d'isolement *Klebsiellapneumoniae* au cours de la période de surveillance des IN

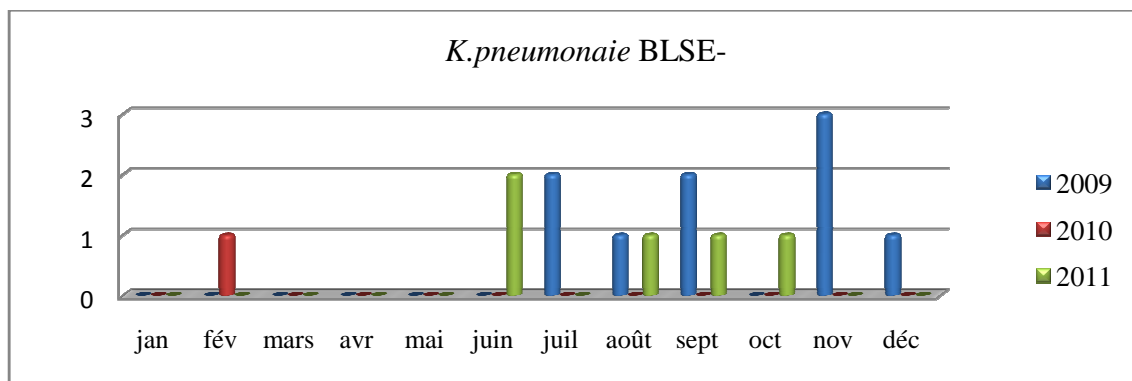


Figure 9:Fréquence d'isolement de *Klebsiellapneumoniae* au cours de la période de surveillance des IN

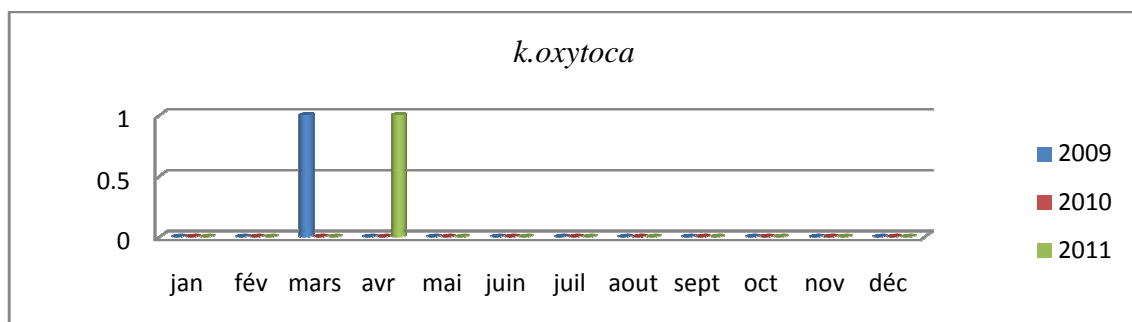


Figure 10:Fréquence d'isolement *Klebsiellaoxytoca* au cours de la période de surveillance des IN

4-Résistance aux antibiotiques du genre l'*Acinetobacter baumannii*:

La résistance et les phénotypes de résistance de l'*Acinetobacter baumannii* sont rapportés dans les tableaux 27 et 28.

Tableau 27 : Résistance de l'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques.

ATB	<i>Acinetobacter baumannii</i> (N : 55)
	Résistant N (%)
TIC	52 (94,5%)
PIP	52 (94,5%)
TCC	52 (94,5%)
TZP	52 (94,5%)
ATM	52 (94,5%)
CAZ	52 (94,5%)
CRO	52 (94,5%)
CFS	52 (94,5%)
IPM	31 (56,4%)
MERO	31 (56,4%)
GN	52 (94,5%)
AN	33 (60%)
TOB	38 (69%)
NET	10 (18,2%)
PEF	47 (85,4%)
CIP	41 (74,5%)
CS	0 (0%)
RA	0 (0%)

Fréquence des phénotypes de résistance des isolats l'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques.

Tableau 28: Fréquence des phénotypes de résistance des isolats d'*Acinetobacter baumannii* aux B lactamines

	Phénotype	<i>Acinetobacter baumannii</i> N : 55
B-lactamines	Sauvage	3 (5,5 %)
	CHN	45 (86,5%)
	BLSE	4 (7,7 %)
	CHN+BLSE	3 (5,8 %)
	Carbapénèmes R	31 (56,4%)
Aminosides	Sauvage	3 (5,5%)
	G	14 (25,4%)
	GTN	4 (7,3%)
	GT	1 (1,8%)
	GTA	27 (49,1%)
	GTANét	6 (10,9 %)
	Fluoroquinolones	Sauvage
PEF		6 (10,9%)
PEF CIP		41 (74,5%)

Evolution des isollements de l'*Acinetobacter baumannii* au cours de la période de surveillance des IN :

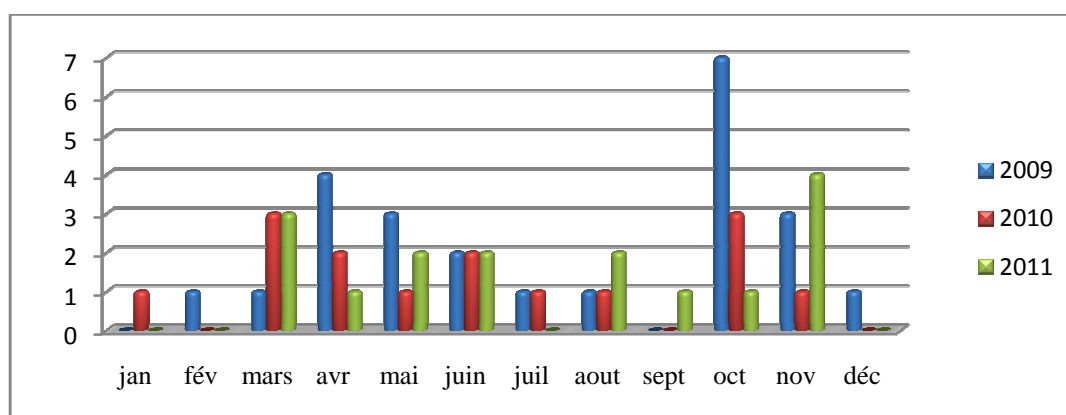


Figure 11: Répartition de l'isolement de l'*Acinetobacter baumannii* au cours de la période de surveillance des IN.

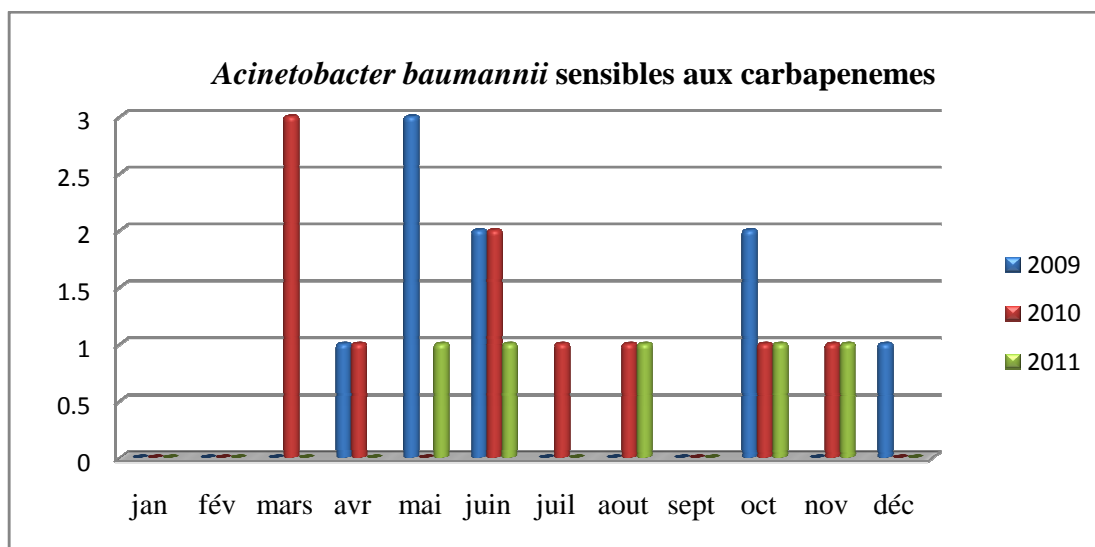


Figure 12: Répartition des isolats de l'*Acinetobacter baumannii* sensible aux carbapenemes au cours de la période de surveillance des IN

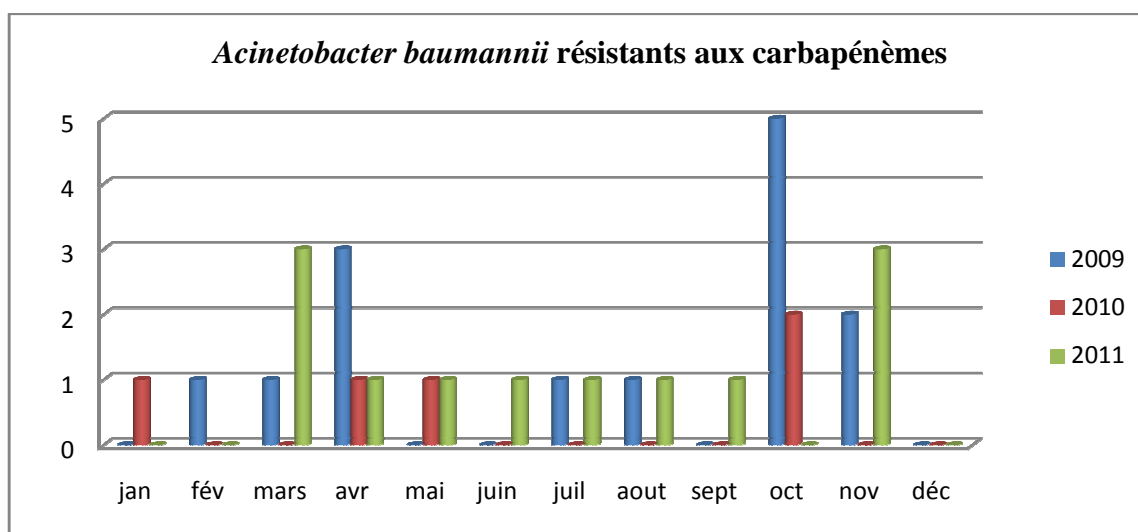


Figure 13: Répartition des isolats de l'*Acinetobacter baumannii* résistant aux carbapenemes au cours de la période de surveillance des IN.

4-Résistance aux antibiotiques du genre *Pseudomonas aeruginosa* :

Tableau 29 : Résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques.

ATB	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	(N : 51)
	Résistant
	N (%)
TIC	0 (0%)
PIP	0 (0%)
TCC	0 (0%)
TZP	0 (0%)
ATM	0 (0%)
CAZ	0 (0%)
CRO	0 (0%)
CFS	0 (0%)
IPM	12 (23,54%)
MERO	12 (23,54%)
GN	0 (0%)
AN	0 (0%)
TOB	0 (0%)
PEF	0 (0%)
CIP	0 (0%)

Fréquence des phénotypes de résistance des isolats de *Pseudomonas aeruginosa* aux B lactamines.

Tableau 30: Fréquence des phénotypes de résistance des isolats *Pseudomonas aeruginosa* aux B lactamines

	Phénotype	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> N : 51
β-lactamines	Sauvage	39 (76,46 %)
	Perte porine D2	12 (23,54%)
	OprD2	
	BLSE	0 (0 %)
	CHN	0 (0 %)
Aminosides	Sauvage	51 (100%)
	G	0 (0%)
	GTN	0 (0%)
	GTNA	0 (0%)
Fluoroquinolones	Sauvage	51 (100%)
	PEF	0 (0%)
	PEF CIP	0 (0%)

Evolution des isolats du *Pseudomonas aeruginosa* au cours des 03 années de surveillance des IN :

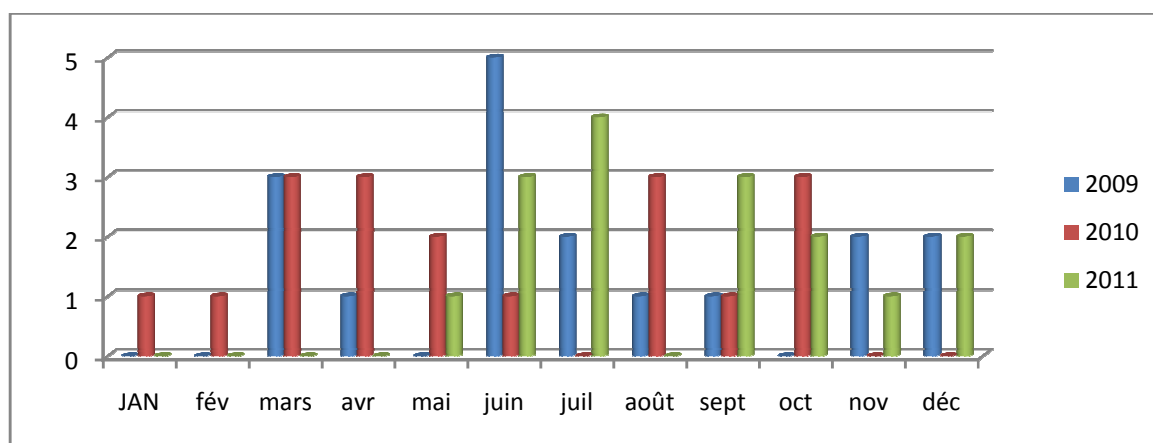


Figure 14 : Répartition de l'isolement du *P. aeruginosa* au cours de la période de surveillance des IN

5-Fréquence des sérotypes de *Pseudomonas aeruginosa* :

Le sérotypes identifiés dans notre étude sont présentés dans la figure 15.

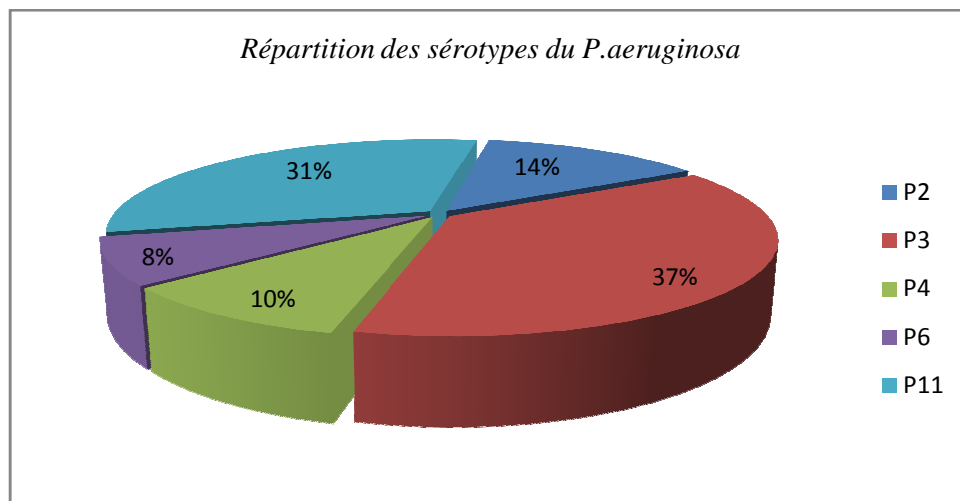


Figure 15: Répartition des sérotypes du *Pseudomonas aeruginosa*

Répartition des sérotypes de *Pseudomonas aeruginosa* identifiées en réanimation en fonction du site d'isolement :

Tableau 31 : répartition des sérotypes des *Pseudomonas aeruginosa* isolés des IN acquises en réanimation

Sérotipe	PPD	Urine	Hémoculture	BLC
P2	5	0	0	0
P3	18	1	0	0
P4	6	1	0	0
P6	3	0	1	0
P11	15	1	0	0
Total	47	3	1	0

Répartition des sérotypes de *Pseudomonas aeruginosa* identifiées en réanimation en fonction de la résistance aux carbapénèmes:

Tableau 32 :Répartition des sérotypes de *Pseudomonas aeruginosa* identifiées en réanimation en fonction de la résistance aux carbapénèmes

Sérotype	Résistant carbapénème	Sensible carbapèneme
P3	0	19
P4	7	0
P2	5	0
P11	0	16
P6	0	4
Total	12	39

Evolution des isolats du *Pseudomonas aeruginosa* en fonction du sérotype au cours des 03 années de surveillance des IN :

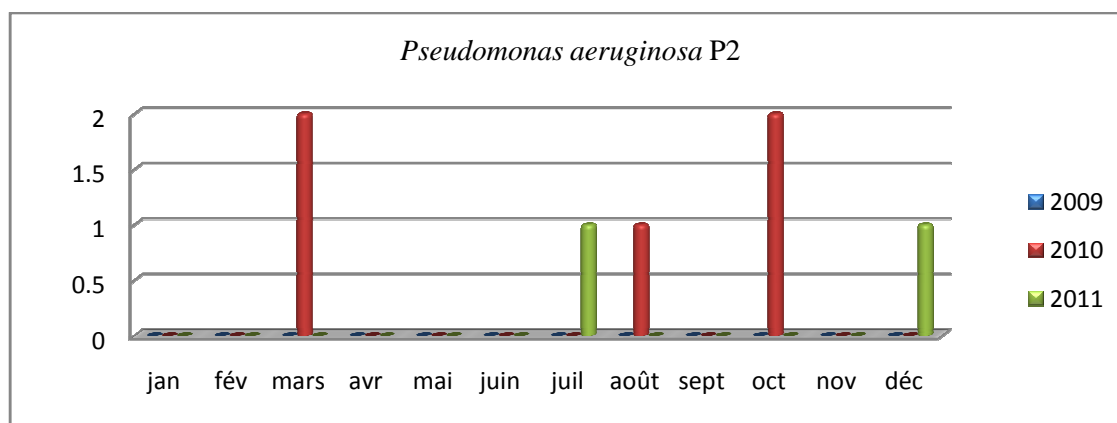


Figure 16: Répartition des isolements du *P.aeruginosa* P2 au cours de la période de surveillance des IN

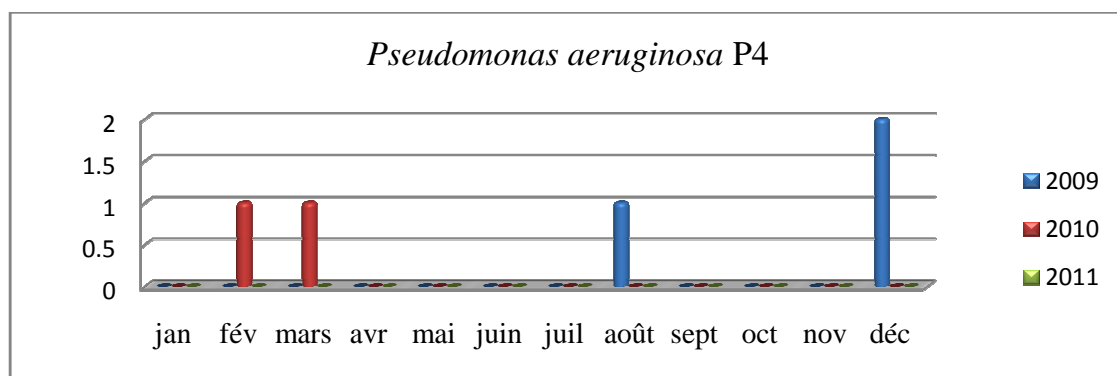


Figure 17: Répartition des isolements du *P.aeruginosa* P4 au cours de la période de surveillance des IN

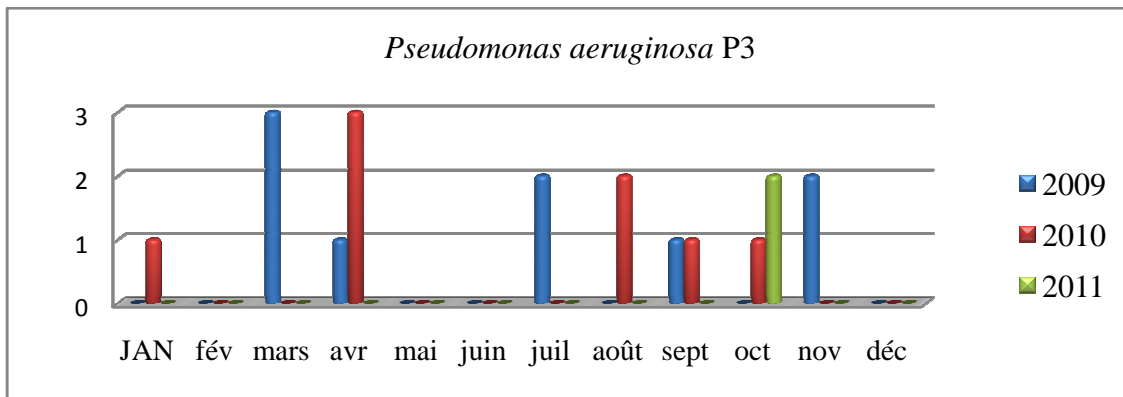


Figure 18: Répartition des isolements du *P.aeruginosa* P3 au cours de la période de surveillance des IN.

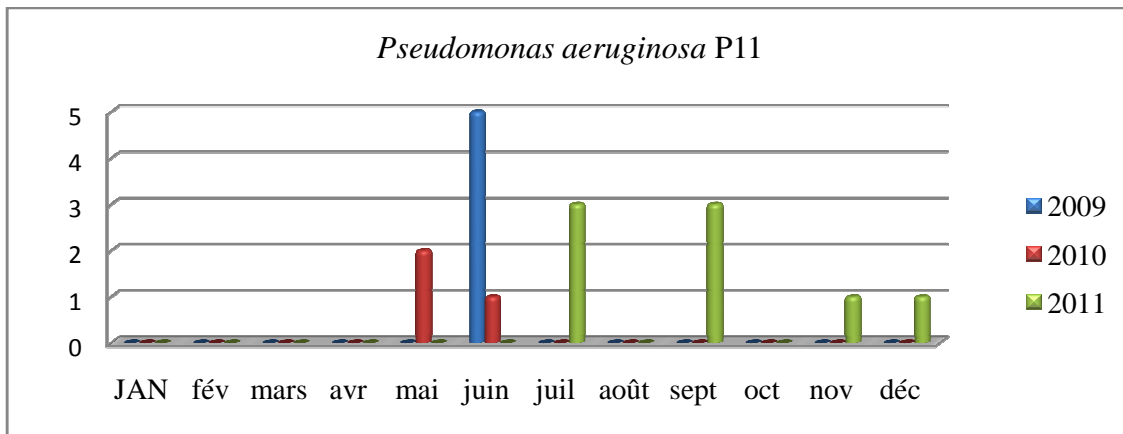


Figure 19: Répartition des isolements du *P.aeruginosa* P11 au cours de la période de surveillance des IN.

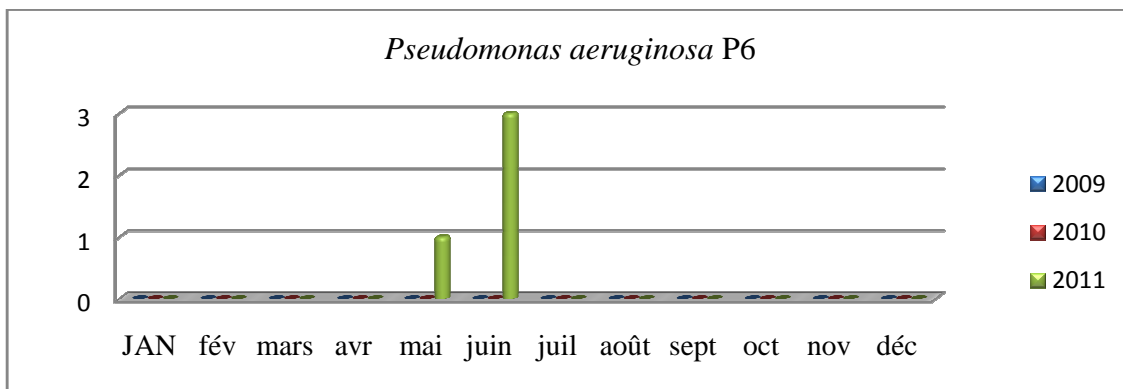


Figure 20: Répartition des isolements du *P.aeruginosa* P6 au cours de la période de surveillance des IN.

6-Résistance aux antibiotiques du genre *E.coli*

Tableau 33 : Résistance aux antibiotiques des souches *E.coli* isolées en fonction du site du prélèvement

	<i>E.coli</i> (N : 21)		
	PPD (N : 4) R (%)	Urine (N : 15) R (%)	Hémoculture (N : 2) R (%)
AM	3 (75%)	13 (86,6%)	1(50%)
CZ	3 (75%)	7 (46,6%)	0 (0%)
FOX	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
CTX	1 (25%)	6 (40%)	0 (0%)
CRO	1 (25%)	6 (40%)	0 (0%)
ATM	1 (25%)	6 (40%)	0 (0%)
CAZ	1 (25%)	6 (40%)	0 (0%)
AMC	3 (75%)	8 (53,3%)	1(50%)
TTC	1 (25%)	6 (40%)	0 (0%)
TZP	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
IMP	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ERT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
GN	1 (25%)	6 (40%)	0 (0%)
AN	0 (0%)	4 (26,6%)	0 (0%)
TB	1 (25%)	6 (40%)	0 (0%)
K	1 (25%)	7 (46,6%)	0 (0%)
NET	0 (0%)	1 (6,6%)	0 (0%)
NAL	1 (25%)	6 (40%)	0 (0%)
PEF	1 (25%)	5 (33,3%)	0 (0%)
CIP	1 (25%)	4 (26,6%)	0 (0%)
SXT	2 (50%)	7 (46,6%)	1(50%)
TETR	1 (25%)	4 (26,6%)	0 (0%)
CS	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
FT	1 (25%)	1 (6,6%)	0 (0%)
C	1 (25%)	3 (20%)	0 (0%)

Fréquence des phénotype de résistance des isolats d'*E.coli* aux antibiotiques.

Tableau 34: Fréquence des phénotypes de résistance des isolats d'*E.coli* aux antibiotiques.

ATB	Phénotype	<i>E.coli</i> (N : 21)
B-lactamines	Sauvage	4 (19,1%)
	BLSE	7 (33,3%)
	CHN	0 (0 %)
	CBN	2 (9,5 %)
	PHN	3 (14,2 %)
	PBN	5 (23,8 %)
Aminosides	Sauvage	13 (62%)
	K	1 (4,7%)
	GKT	3 (14,3%)
	GTN	0 (0%)
	GKTA	3 (14,3%)
	KGATNét	1 (4,7%)
Fluoroquinolones	Sauvage	14 (66,7%)
	NAL	1 (4,7%)
	NAL PEF	1 (4,7%)
	NAL PEF CIP	5 (23,8%)

Evolution des isolements d'*E.coli* au cours de la période de surveillance des IN :

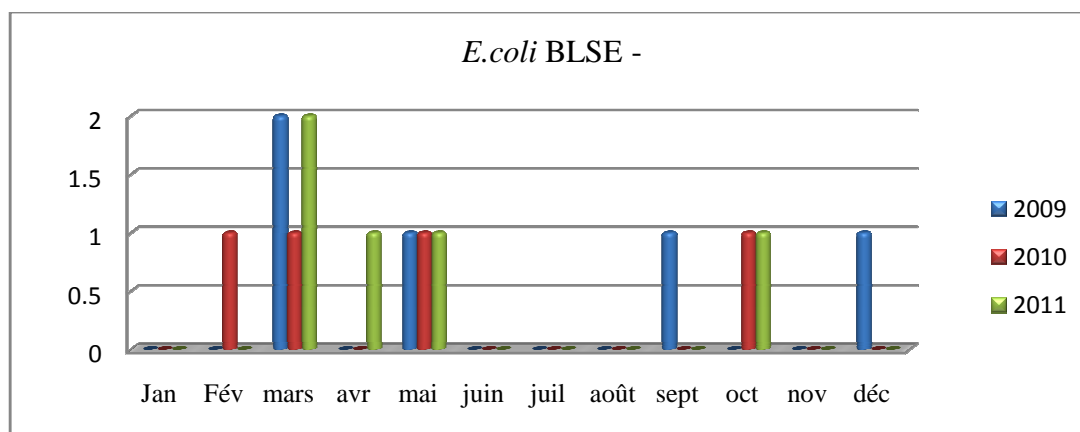


Figure 21: Fréquence d'isolement d'*E.coli*BLSE - au cours de la période de surveillance des IN

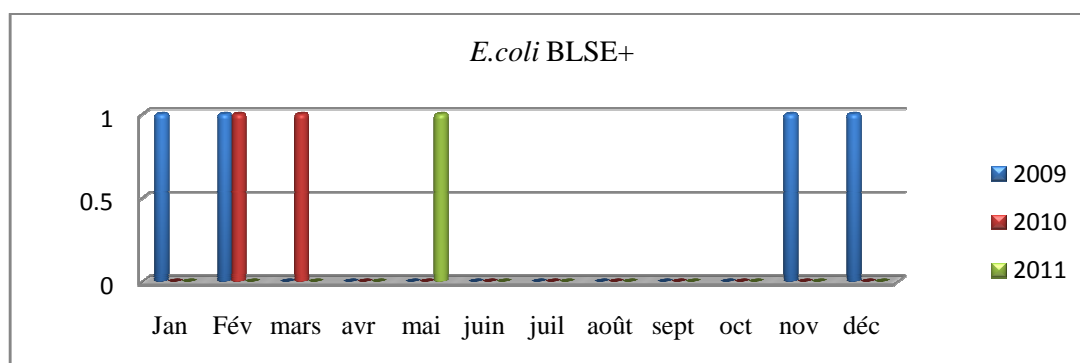


Figure 22: Fréquence d'isolement d'*E.coli*BLSE+ au cours de la période de surveillance des IN.

7-Résistance aux antibiotiques du genre *Enterobacter sp* :

Tableau 35: Résistance aux antibiotiques des souches isolées en fonction du site du prélèvement

	<i>E.cloacae</i> (N : 12)		<i>E.aerogenes</i> (1)	
	PPD (N : 8)	Urine (N : 2)	Hémoculture (N : 2)	Urine (N : 1)
	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)
CZ	8 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
FOX	8 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
CTX	8 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
CRO	8 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
ATM	8 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
CAZ	8 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
AMC	8 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
TTC	8 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
TZP	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
IMP	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ERT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
GN	7 (87,5%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
AN	3 (42,8%)	1 (50%)	1 (50%)	0 (0%)
TB	7 (87,5%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
K	7 (87,5%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
NET	3 (42,8%)	1 (50%)	1 (50%)	0 (0%)
NAL	5 (71,4%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
PEF	4 (57,1%)	2 (100%)	1 (50%)	1 (100%)
CIP	2 (28,6%)	1 (50%)	1 (50%)	1 (100%)
SXT	6 (85,7%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
TETR	6 (85,7%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
CS	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
FT	6 (85,7%)	2 (100%)	2 (100%)	0 (0%)
C	4 (57,1%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)

Fréquence des phénotype de résistance des isolats d'*Enterobacter sp* aux antibiotiques

Tableau 36 : Fréquence des phénotypes de résistance des isolats d'*Enterobacter sp* aux antibiotiques.

ATB	Phénotype	<i>Enterobacter cloacae</i> N :12	<i>Enterobacter aerogenes</i> N : 1
B-lactamines	Sauvage	0 (0 %)	0 (0 %)
	BLSE	11 (91,7 %)	1 (100 %)
	CHN	1 (8,3 %)	0 (0 %)
	BLSE+CHN	0 (0 %)	0 (0 %)
	PHN	0 (0 %)	0 (0 %)
	Sauvage	1 (8,4%)	0 (0%)
	G	0 (0%)	0 (0%)
	GTK	6 (50%)	1 (100%)
	GTKNA	5 (41,6%)	0 (0%)
	ATN	0 (0%)	0 (0%)
Fluoroquinolones	Sauvage	3 (25%)	0 (0 %)
	NAL	2 (16,7%)	0 (0 %)
	NAL PEF	3 (25%)	0 (0 %)
	NAL PEF CIP	4 (33,3%)	1 (100%)

Fréquence des isolements d'*Enterobacter cloacae* au cours de la période de surveillance des IN:

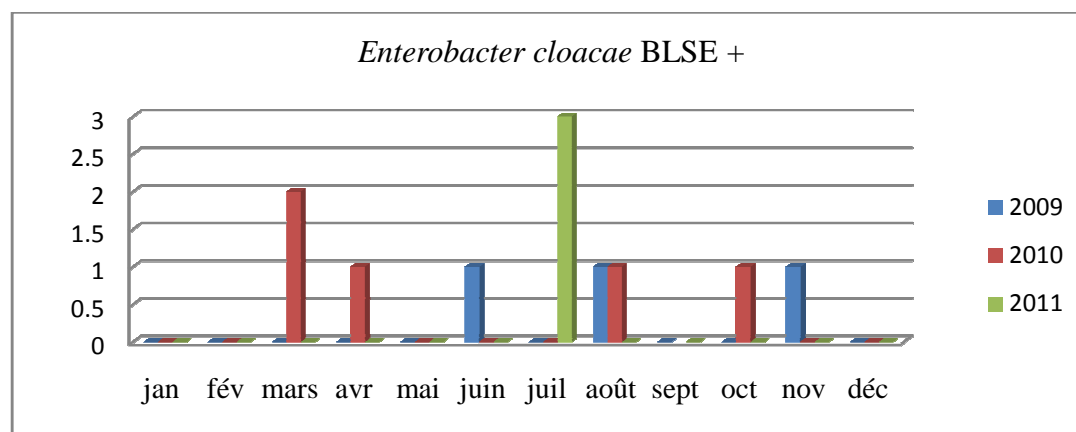


Figure 23: Répartition des isolats d'*Enterobacter cloacae* BLSE+ au cours de surveillance des IN.

8-Résistance aux antibiotiques du genre *Proteus.sp* :

Tableau 37:Résistance aux antibiotiques des souches de *Proteus.sp* en fonction du site du prélèvement

	<i>Proteus mirabilis</i> N : 10			<i>P.vulgaris</i> N : 1
	PPD (N : 3) R (%)	Urine (N : 6) R (%)	Hémoculture (N : 1) R (%)	PPD (N : 1) R (%)
CZ	2 (66,6%)	3 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
FOX	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
CTX	2 (66,6%)	3 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
CRO	2 (66,6%)	3 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
ATM	2 (66,6%)	3 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
CAZ	2 (66,6%)	3 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
AMC	2 (66,6%)	3 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
TTC	2 (66,6%)	3 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
TZP	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
IMP	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ERT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
GN	2 (66,6%)	2 (33,3%)	0 (0%)	0 (0%)
AN	2 (66,6%)	2 (33,3%)	0 (0%)	0 (0%)
TB	2 (66,6%)	2 (33,3%)	0 (0%)	0 (0%)
K	2 (66,6%)	2 (33,3%)	0 (0%)	0 (0%)
NET	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
NAL	2 (66,6%)	3 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
PEF	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
CIP	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
SXT	2 (66,6%)	2 (33,3%)	0 (0%)	1 (100%)
TETR	1 (33,3%)	2 (33,3%)	0 (0%)	1 (100%)
CS	3 (100%)	6 (100%)	1(100%)	1 (100%)
FT	0 (0%)	2(33,3%)	0 (0%)	1 (100%)
C	1(33,3%)	2(33,3%)	0 (0%)	0 (0%)

Fréquence des phénotypes de résistance des isolats de *Proteus sp* aux B lactamines.

Tableau 38 : Fréquence des phénotypes de résistance des isolats *Proteus sp* aux antibiotiques.

ATB	Phénotype	<i>Proteus mirabilis</i> N :10	<i>Proteus vulgaris</i> N : 1
B-lactamines	Sauvage	5 (50 %)	0 (0 %)
	BLSE	5 (50 %)	0 (0 %)
	CHN	0 (0 %)	0 (0 %)
	BLSE+CHN	0 (0 %)	0 (0 %)
	PHN	0 (0 %)	1 (100 %)
Aminosides	Sauvage	6 (60%)	1 (100 %)
	GTK	0 (0%)	0 (0 %)
	KGTA	4 (40%)	0 (0%)
	GTNA	0 (0%)	0 (0 %)
Fluoroquinolones	Sauvage	5 (50%)	1 (100 %)
	NAL	5 (50%)	0 (0 %)
	NAL PEF	0 (0%)	0 (0 %)
	NAL PEF CIP	0 (0%)	0 (0%)

Fréquence des isolements du *Proteus sp* au cours de la période de surveillance des IN

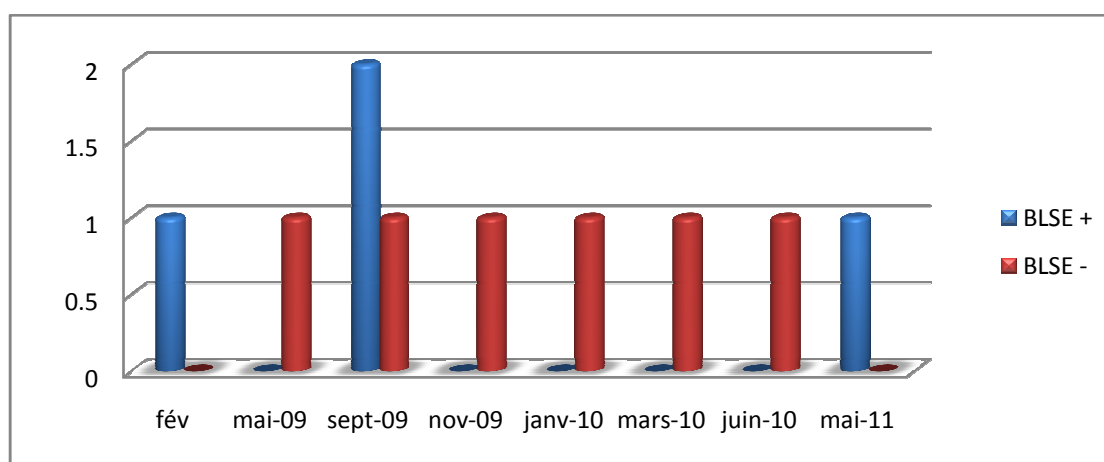


Figure 24: Répartition des isolements du *Proteus mirabilis* au cours de la période de surveillance des IN

9-Résistance aux antibiotiques des isolats *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Raoultella ornithinolytica* et *Providencia stuartii*.

Tableau 39 : Résistance aux antibiotiques des isolats *Morganella morganii* et *Serratia marcescens*

ATB	<i>Morganella morganii</i> (N :3) R	<i>Serratia marcescens</i> (N :2) R	<i>Raoultella ornithinolytica</i> (N: 2) R	<i>Providencia stuartii</i> (N : 1) R
AM	3 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
CZ	3 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1(100%)
FOX	0 (0%)	0 (00%)	0 (0%)	0 (00%)
AMC	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
TCC	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
TZP	0 (0%)	0 (0%)	2(100%)	0 (0%)
CTX	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
CRO	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
CAZ	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
ATM	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
IPM	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ERT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
GN	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
AM	3(100%)	1 (50%)	0 (100%)	1 (100%)
TOB	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
K	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
NET	2 (66,6%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
NAL	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
PEF	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
CIP	3(100%)	1 (50%)	2 (100%)	1 (100%)
SXT	3(100%)	1 (50%)	2 (100%)	1 (100%)
TET	3(100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
C	2 (66,6%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (100%)
F	2 (66,6%)	2 (100%)	0 (0%)	1 (100%)
CS	2 (100%)	2 (100%)	0 (0%)	1 (100%)

Fréquence des phénotype de résistance des isolats *Morganella morganii* et *Serratia marcescens*, *Raoultella ornithinolytica* et *Providencia stuartii* aux B lactamines.

Tableau 40 : Fréquence des phénotype de résistance des isolats *Morganella morganii* et *Serratia marcescens* aux B lactamines.

	Phénotype	<i>Morganella morganii</i> (N :3)	<i>Serratia marcescens</i> (N :2)	<i>Raoultella ornithinolytica</i> (N : 2)	<i>Providencia stuartii</i> (N :1)
β-lactamines	Sauvage	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	BLSE	3 (100 %)	2 (100 %)	2 (100 %)	1 (100 %)
	CHN	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	BLSE+CHN	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	Sauvage	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Aminosides	G	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	GTK	2 (100 %)	0 (0 %)	2 (100 %)	0 (0 %)
	GTKN	0 (0 %)	1 (50 %)	0 (0 %)	1 (100 %)
	GTKNA	0 (0 %)	1 (50 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	Sauvage	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Fluoroquinolones	NAL	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	NAL PEF	0 (0 %)	1 (50 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	NAL PEF CIP	2 (100 %)	1 (50 %)	2 (100 %)	1 (100 %)
	Sauvage	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

10-Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus*.

Tableau 41: Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus*.

<i>Staphylococcus aureus</i> (N : 26)				
	PPD (N : 21)	Urine (N : 1)	Hémoculture (N : 3)	BLC (N : 1)
	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)
P	21 (100%)	1 (100%)	3 (100%)	1 (100%)
OX	14 (66,6%)	0 (0%)	2 (66 ,6%)	0 (0%)
FOX	14 (66,6%)	0 (0%)	2 (66 ,6%)	0 (0%)
K	16 (61,5%)	0 (0%)	2 (66 ,6%)	0 (0%)
TB	14 (66,6%)	0 (0%)	2 (66 ,6%)	0 (0%)
GN	14(66,6%)	0 (0%)	2 (66 ,6%)	0 (0%)
E	14 (66,6%)	0 (0%)	2 (66 ,6%)	0 (0%)
L	14 (66,6%)	0 (0%)	2 (66 ,6%)	0 (0%)
PT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
VA	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
TEI	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
FOS	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
FUC	5 (23,8%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
PEF	6 (28,6%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
RA	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
TET	2 (9,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Fréquence des phénotype de résistance des isolats de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques.

Tableau 42: Fréquence des phénotypes de résistance des isolats *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques.

ATB	Phénotype	<i>Staphylococcus aureus</i> (N :26)
Methicilline	MRSA -	10 (38,5%)
	MRSA +	16 (61,5%)
	sauvage	8 (30,8%)
Aminosides	K	2 (7,7%)
	KT	0 (0%)
	KTG	16 (61,5%)
MLs	sauvage	12 (47,2%)
	MLS_b inductible	0 (0%)
	MLS_b constitutive	14 (53,8%)
Glycopeptides	sauvage	26 (100%)
	GISA/VISA	0 (0%)

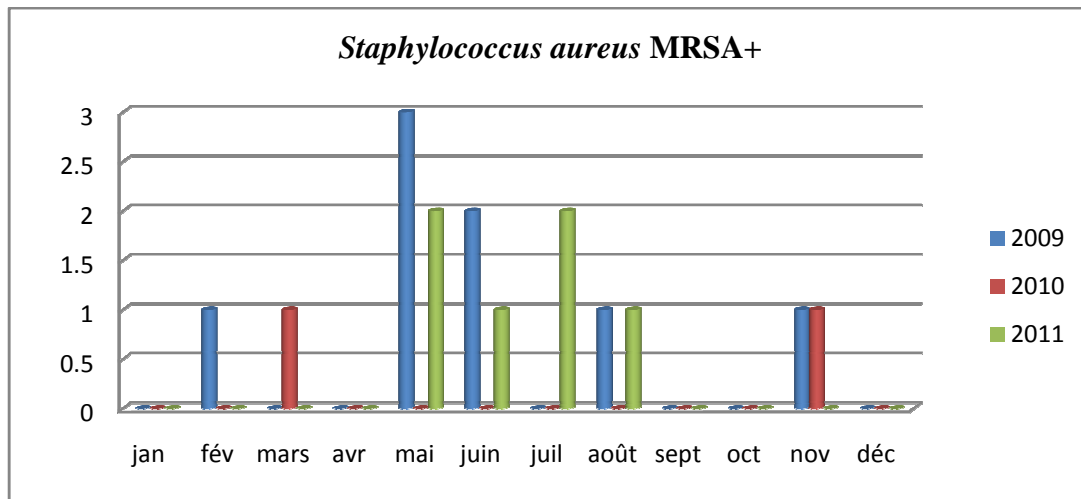


Figure 25: Répartition des isollements du *Staphylococcus aureus*MRSA (+) au cours de la période de surveillance des IN

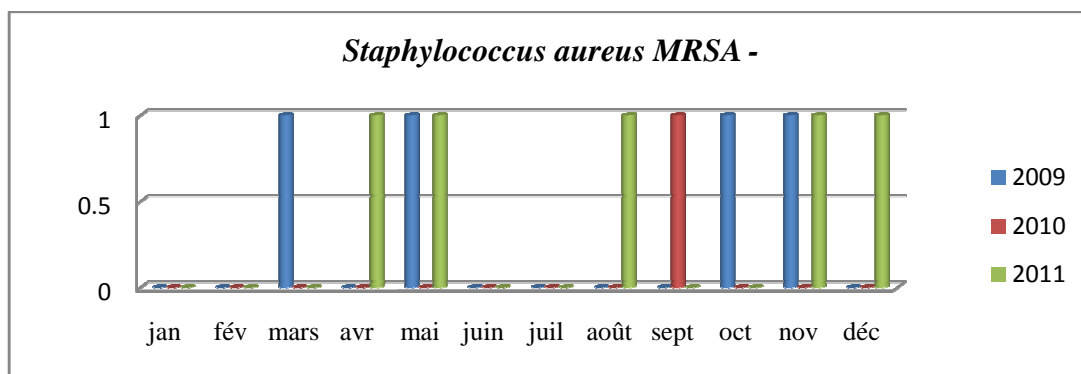


Figure 26: Répartition des isollements du *Staphylococcus aureus*MRSA (-) au cours de la période de surveillance des IN.

11-Résistance aux antibiotiques de *Burkholderia cepacia* et de *Stenotrophomonas maltophilia* aux antibiotiques:

Tableau 43 : Résistance aux antibiotiques de *Burkholderia cepacia* et de *Stenotrophomonas maltophilia*

ATB	<i>Burkholderia cepacia</i> (N :4) R	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (N :1) R
TIC	4 (100%)	1(0%)
PIP	0 (0%)	1(0%)
TCC	4 (100%)	0 (0%)
TZP	0 (0%)	1 (100%)
ATM	0 (100%)	1 (100%)
CAZ	0 (0%)	0 (0%)
IPM	4 (100%)	1 (100%)
MERO	0 (0%)	0 (0%)
GN	4 (100%)	0 (0%)
AN	4 (100%)	0 (0%)
TOB	4 (100%)	0 (0%)
PEF	0 (0%)	0 (0%)
CIP	0 (0%)	0 (0%)

12-Résistance aux antibiotiques du genre *Enterococcus sp.*

Tableau 44 : Résistance aux antibiotiques du genre *Enterococcus sp.*

ATB	<i>Enterococcus faecium</i> (N : 1)	<i>Enterococcus faecalis</i> (N : 2)
	R N (%)	R N (%)
AMP	1 (100%)	0 (0%)
GHN	0 (0%)	0 (0%)
TET	0 (0%)	0 (0%)
VA	0 (0%)	0 (0%)
TEI	0 (0%)	0 (0%)

13-Résistance aux antibiotiques du genre *Haemophilus influenzae*.

Tableau 45: Résistance aux antibiotiques *Haemophilus influenzae*.

ATB	<i>Haemophilus influenzae</i> (N :2) R (%)
AMP	0 (0%)
AMC	0 (0%)
CZ	0 (0%)
TET	0 (0%)
SXT	0 (0%)

14-Indicateurs des infections nosocomiales acquises en réanimation médicale :

Tableau 46 : Indicateurs des infections nosocomiales dans le service réanimation.

	Nombre patient	Nombre infection	taux
Incidence cumulée globale			
Tous les sites	885	149	16.83 / 100 patients surveillés
Patients infectés à SARM	885	16	1.58/ 100 patients surveillés
Patients infectés à E-BLSE	885	90	10,16 / 100 patients surveillés
Patients infectés à PARC	885	12	1.69 / 100 patients surveillés
Patients infectés à ABRC	885	31	3,5 /100 patients surveillés
Incidence pour 100 patients exposés			
Pneumopathie	513	137	26.70 / 100 patients intubés
Infection urinaire	760	45	5.92 / 100 patients sondés
Bactériémie	885	17	1.92 /100 patients surveillés
Incidence pour 1000 jours d'exposition	Nombre de jours	Nombre infection	Taux
Pneumopathie (liée à la VM)	4143	137	33.06 / 1000 j de VM
Infection urinaire (liée au sondage)	8664	45	5.19 / 1000 j de sondage
Bactériémie (liée au séjour)	10612	17	1.60 /1000 j en réanimation
Bactériémie (liée au cathéter)	1594	6	3.79 /1000 j de cathétérisme

IV- Etude moléculaire :

1- Les entérobactéries :

-Nous avons effectué une caractérisation moléculaire des genes ESBL pour 43 souches entérobactéries :

- 24 souches de *Klebsiella pneumoniae*,
- 02 souches de *Raoultella ornithinolytica*,
- 07 souches d' *E.coli*
- 07 souches d' *Enterobacter cloacae*,
- 03 souches de *Morganella morgannii*.

Les séquences nucléotidiques et protéiques obtenues sont analysées par the BLAST and FASTA programs of the National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) et par le programme the TEM and SHV β -lactamase database (www.lahey.org/studies/webt.htm)

-Une recherche de la carbapénémase pour NDM-1 pour ces memes souches.

Les résultats du séquençagesont rapportés dans le tableau 47 page 144.

2- *Acinetobacter baumannii* :

Nous avons rechercher par PCR les gènes de résistance aux carbapenemes pour 17 souches :

- *bla_{OXA23}*,
- *bla_{OXA24}*,
- *bla_{oxa51/ISaba1}*
- *bla_{oxa58}*,
- *bla_{NDM-1}*

3- *Staphylococcus aureus* :

10 souches de *Staphylococcus aureus* MRSA+ ont été

- Recherche du gène MecA.
- Recherche des facteurs de virulence : toxine PVL, et la TSST.

1-Résultats de la recherche des genes BLSE chez les enterobactéries par PCR :

Légendes pour l'interprétation des résultats PCR:

MT : Marqueur de taille,

T+ : Témoin positif,

T - : Témoin négatif,

1, 2, 3... : Numéro de la souche bactérienne testée.

1-1 *klebsiella pneumoniae* :

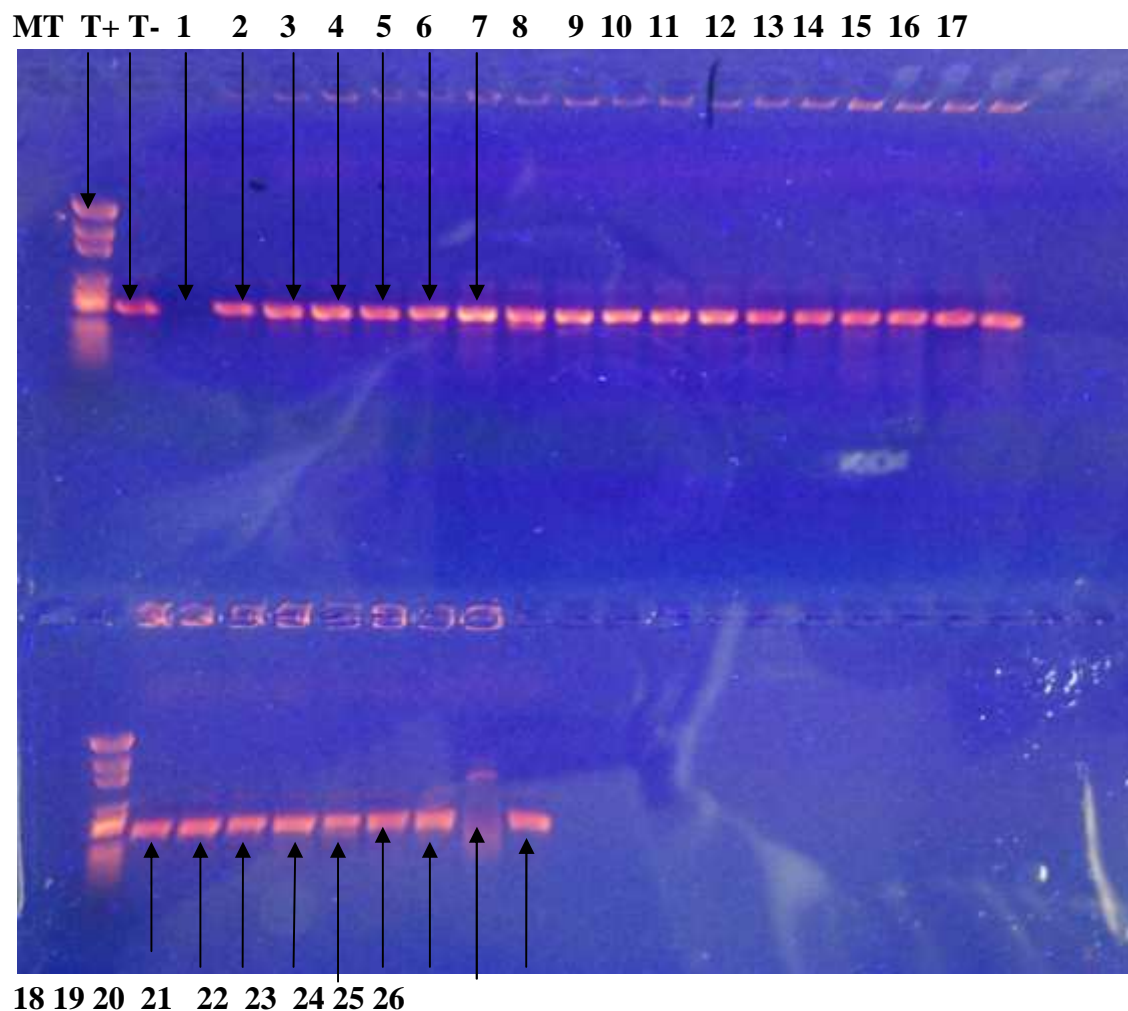
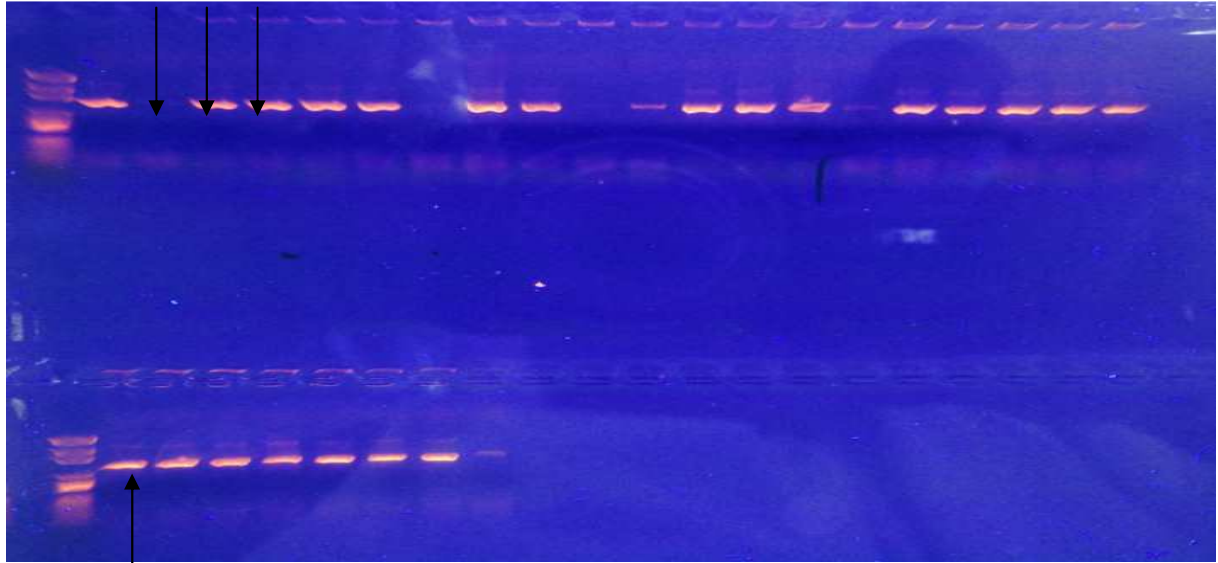


Figure 27: Résultats de l'amplification du gène *Bla_{CTX-M}* chez des souches de *Klebsiella* BLSE+

MT T+ T- 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18



19 20 21 22 23 24 25 26

Figure 28: Résultats de l'amplification du gène *Bla_{TEM}* chez des souches de *Klebsiella BLSE+*.

MT T+ T-

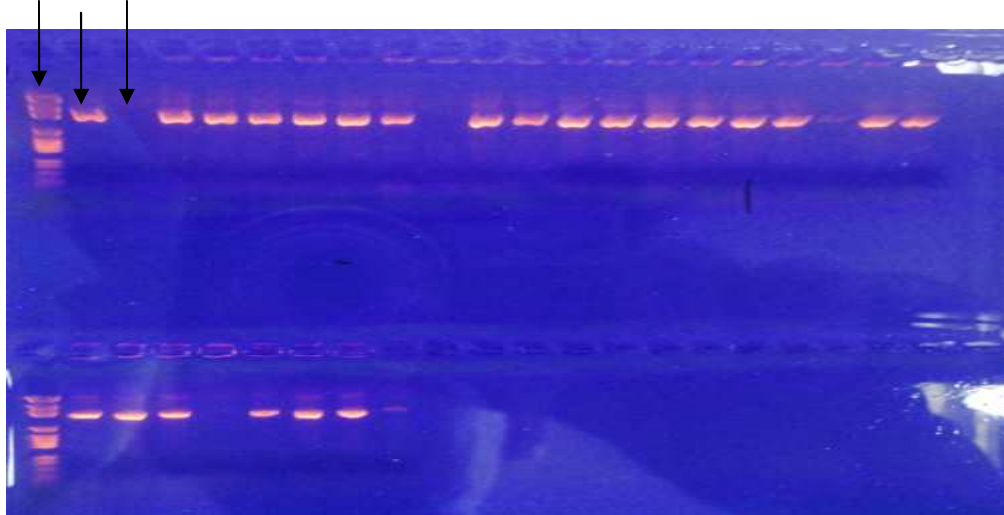


Figure 29: Résultats de l'amplification du gène *Bla_{SHV}* chez des souches de *Klebsiella BLSE+*.

1-2 *Enterobacter cloacae* :

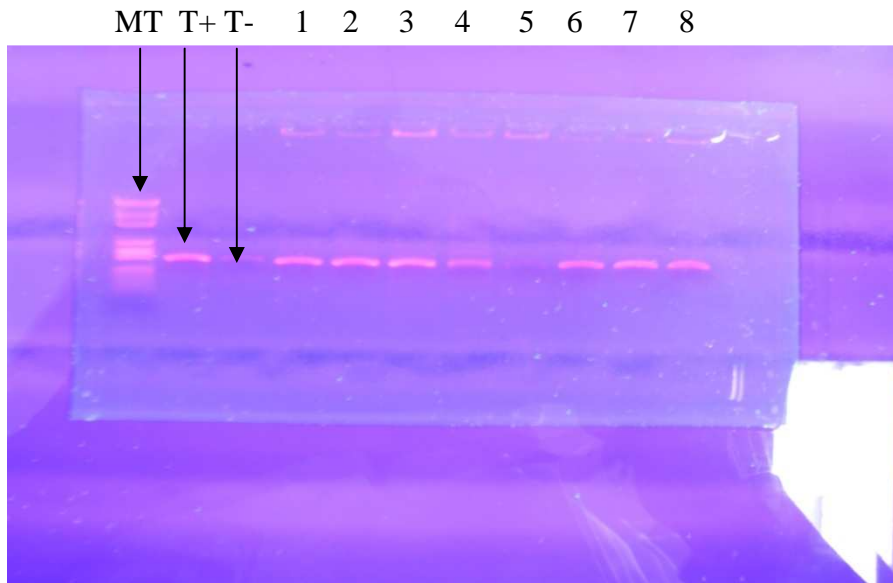


Figure 30 : Résultats de l'amplification du gène *Bla_{CTX-M}* chez des souches d'*Enterobacter cloacae* BLSE+.

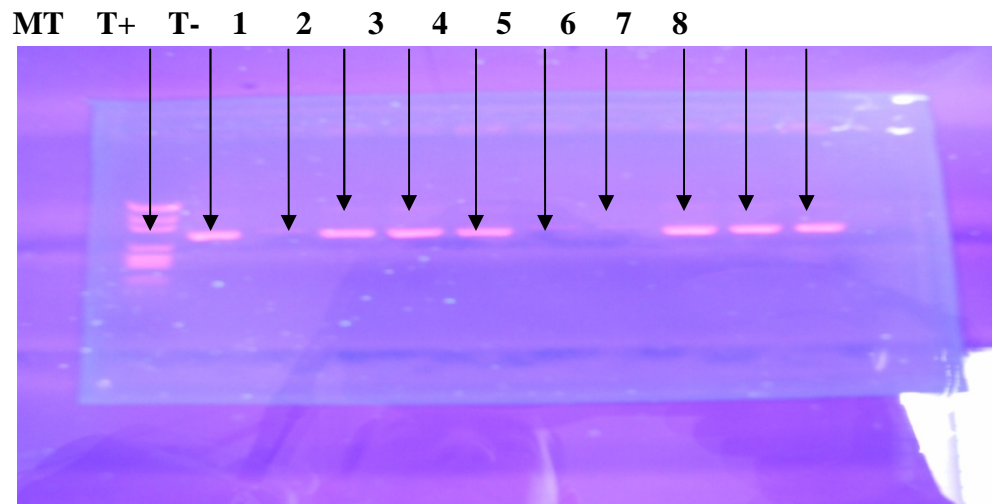


Figure 31: Résultats de l'amplification du gène *Bla_{TEM}* chez des souches d'*Enterobacter cloacae* BLSE+.

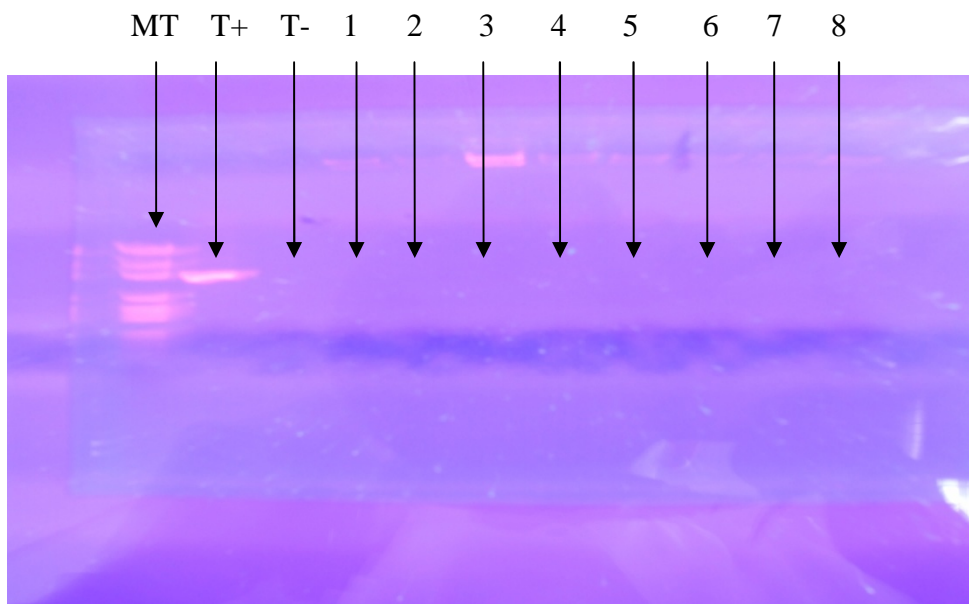


Figure 32: Résultats de l'amplification du gène *Bla_{SHV}* chez des souches d'*Enterobacter cloacae* BLSE+.

1-3- E.coli :

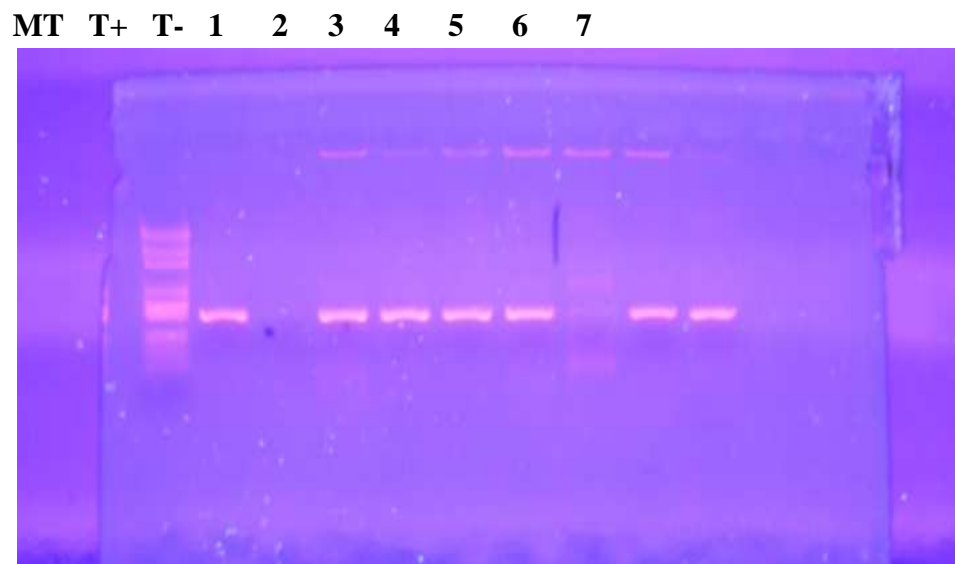


Figure 33: Résultats de l'amplification du gène *Bla_{CTX-M}* chez des souches d'*E. coli* BLSE+.

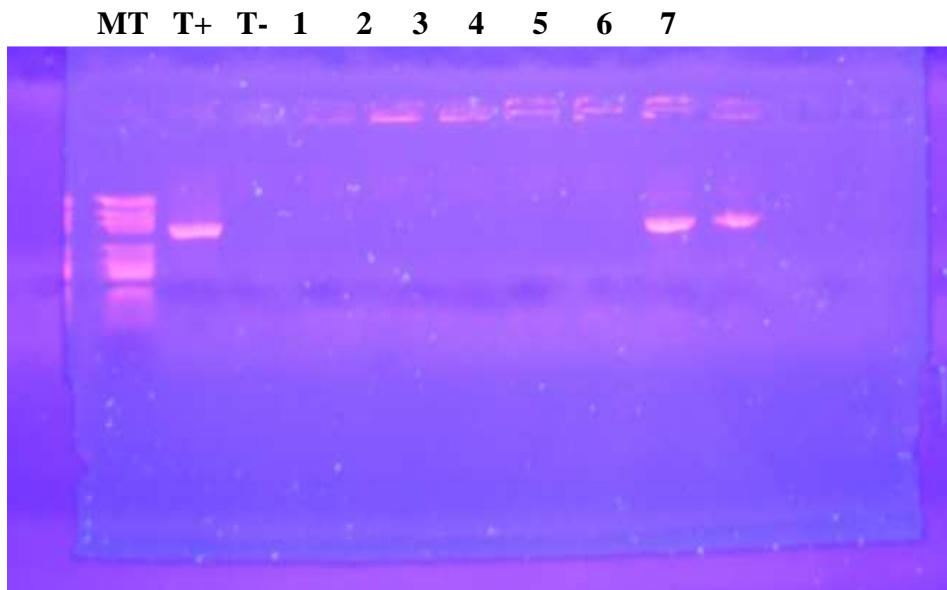


Figure 34: Résultats de l'amplification du gène *Bla_{SHV}* chez des souches d'*E.coli BLSE+*.

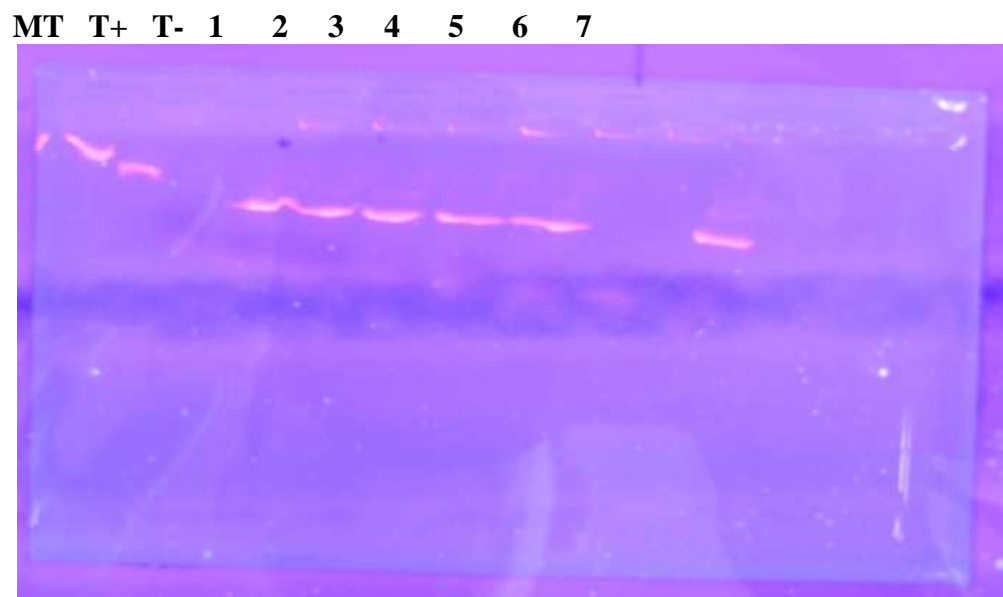


Figure 35 : Résultats de l'amplification du gène *Bla_{TEM}* chez des souches d'*E.coli BLSE+*.

1-4- *Morganella morganii*

CTX-M

TEM

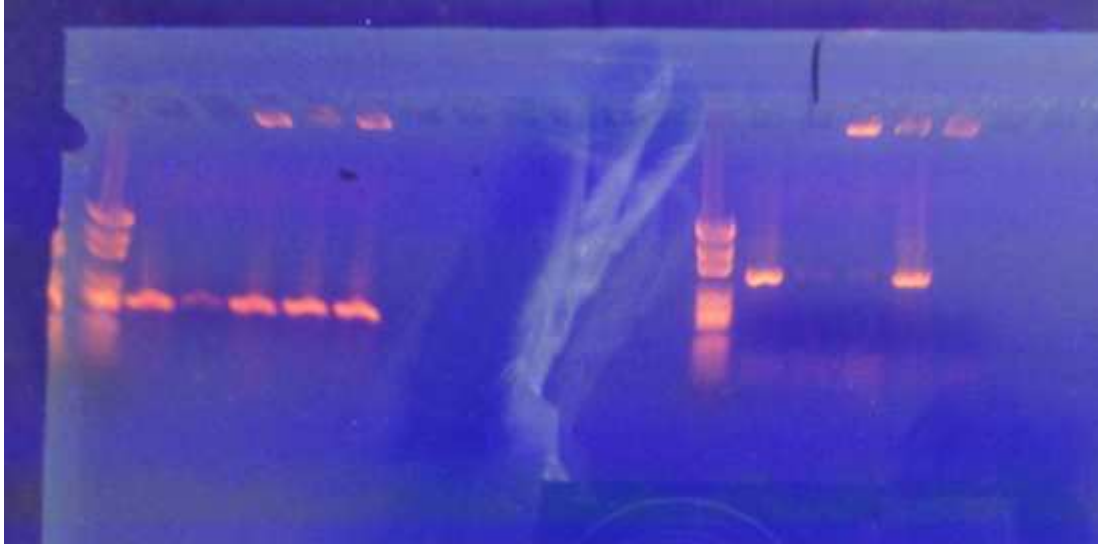


Figure 36 : Résultats de l'amplification des gènes Bla_{CTX-M} et Bla_{TEM} de *Morganella morganii*.

2-Résultats de la recherche de la carbapénémase (Bla_{NDM-1}) Par PCR :

MT T+ T-

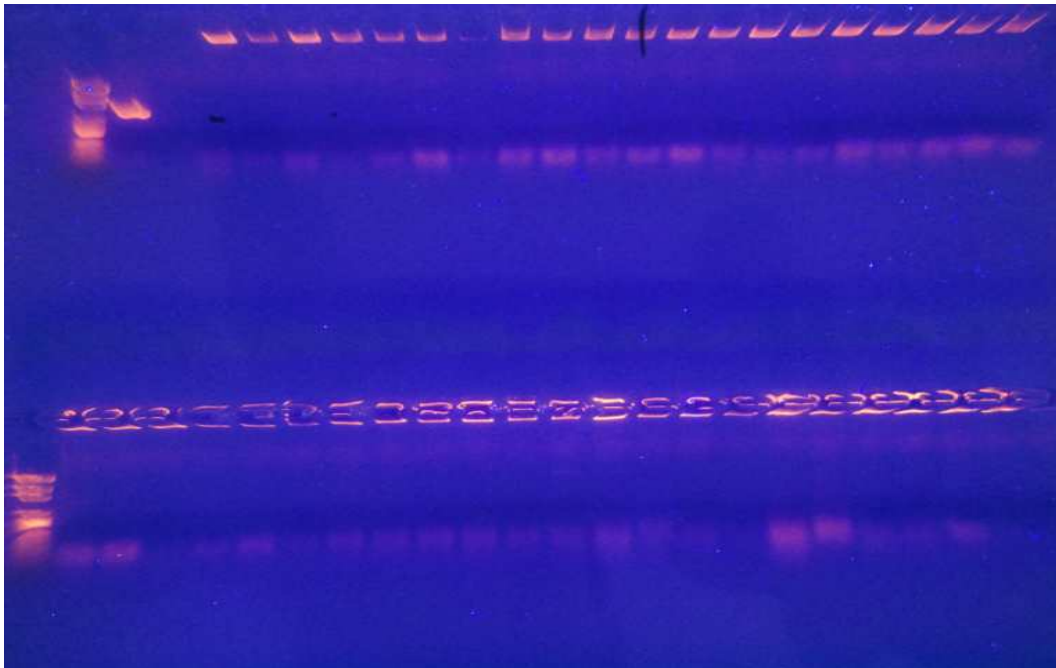


Figure 37 : Résultats de l'amplification du gène Bla_{NDM} chez 41 souches d'entérobactéries.

MT T+ T- 1 2 3 4 5 6 7 8



Figure 38: Résultats de l'amplification du gène *Bla_{NDM-1}* chez des souches d'*Acinetobacter baumannii*.

3-Résultats de la recherche des carbapénemase type *Bla_{OXA}* chez *Acinetobacter baumannii* par PCR :

MT T+ T- 1 2 3 4 5 6 7 8 MT T+ T- 1 2 3 4 5 6 7 8

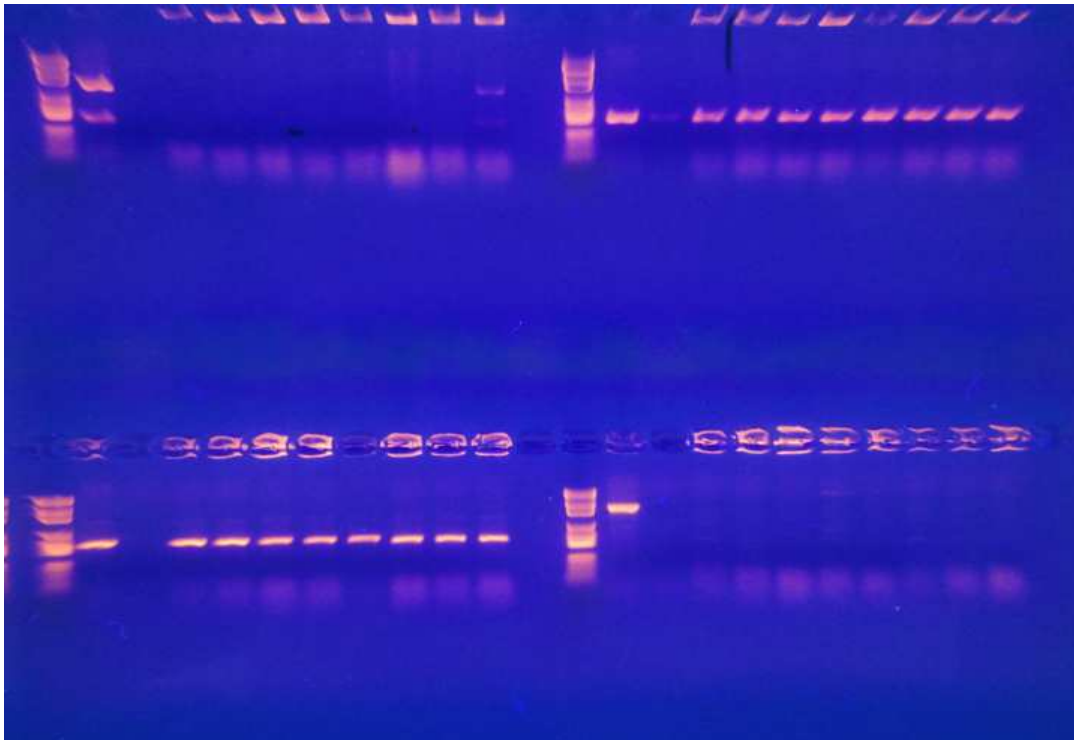


Figure 39 : Résultats de l'amplification des gènes : *Bla_{oxa24}*, *Bla_{oxa23}*, *Bla_{oxa51/isaba1}*, *Bla_{oxa58}* chez des souches d'*Acinetobacter baumannii*.

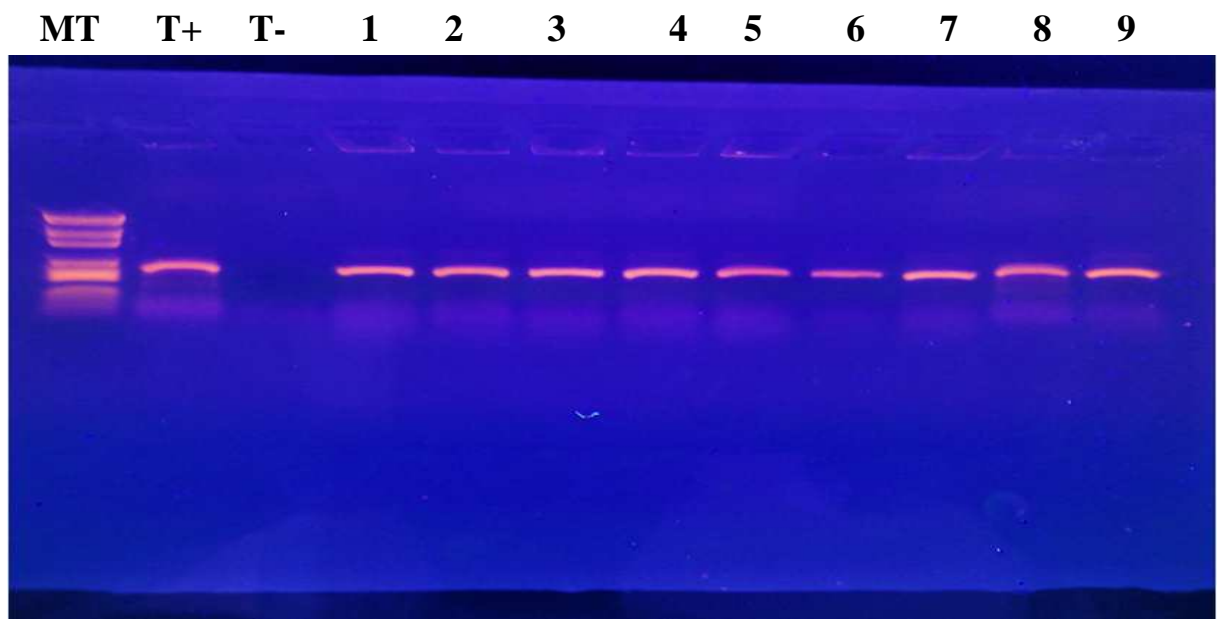


Figure 40: Résultats de l'amplification des gènes *Bla_{oxa23}* des souches d'*Acinetobacter baumannii*.

Toutes les souches d'*Acinetobacter baumannii* arborent les gènes *Bla_{oxa23}* et *Bla_{oxa51/isaba1}*

4- Resultats du sequençage :

I- KLEBSIELLA :

Séquence protéique CTX-M-15 :

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans la GenBank sous le numéro de code :
EU118598

```

                                     10      20      30      40      50      60
                                     |      |      |      |      |      |
Kpneumoniae_EU118598_CTXM_15  ADVQQKLAELERQSGGRLGVALINTADNSQILYRADERFAMCSTSKVMAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_1_CTXM_15        -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_2_CTXM_15        -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_3_CTXM_15        -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_4_CTXM_15        -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_5_CTXM_15        -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_6_CTXM_15        -----MAAAAVLKKSESE
Rornithinolytica_7_CTXM_15   -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_8_CTXM_15        -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_9_CTXM_15        -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_10_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_11_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_12_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_13_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_14_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_15_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_16_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_17_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_18_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_19_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_20_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_21_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Rornithinolytica_22_CTXM_15  -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_23_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_26_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
Kpneumoniae_24_CTXM_15       -----MAAAAVLKKSESE
                                     *****
Prim.cons.                    ADVQQKLAELERQSGGRLGVALINTADNSQILYRADERFAMCSTSKVMAAAAVLKKSESE
```

	130	140	150	160	170	180
Kpneumoniae_EU118598_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TAIPGDPRD	TTSPRAMAQ	TLRNLTLGKALGDSQRAQL		
Kpneumoniae_1_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_2_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_3_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_4_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_5_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_6_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Rornithinolytica_7_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_8_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_9_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TAI-----				
Kpneumoniae_10_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	T-----				
Kpneumoniae_11_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_12_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_13_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_14_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_15_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLD-----					
Kpneumoniae_16_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_17_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_18_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_19_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_20_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_21_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Rornithinolytica_22_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_23_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_26_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				
Kpneumoniae_24_CTXM_15	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TA-----				

Prim.cons.	VTAFARQLGDETFRLDRTEPTLN	TAIPGDPRD	TTSPRAMAQ	TLRNLTLGKALGDSQRAQL		

Séquence protéique TEM-1 :

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans la GenBank sous le numéro de code :
HM131427

```

          10          20          30          40          50          60
          |          |          |          |          |          |
Kpneumoniae_2_TEM_1  ---QHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_18_TEM_1 ---QHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_17_TEM_1 ---QHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_16_TEM_1 ---QHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_12_TEM_1 ---QHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_21_TEM_1 ---QHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_14_TEM_1 ---QHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_11_TEM_1 ---QHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_24_TEM_1 ---HFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_25_TEM_1 ---HFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Rornithinolytica_22_TEM_1 ----FRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_15_TEM_1 ----HFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_1_TEM_1  ----FRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
HM131427_TEM_1      MSIQHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_4_TEM_1  ----HFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_3_TEM_1  ----HFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_19_TEM_1 --FQHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_20_TEM_1 ---QHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_23_TEM_1 ---QHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
TEM_1_database      MSIQHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_6_TEM_1  --IQHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Rornithinolytica_7_TEM_1 --IQHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Kpneumoniae_10_TEM_1 MSIQHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
                    *****
Prim.cons.         MSIQHFRVALIPFFAAAFCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
```

	250	260	270	280
Kpneumoniae_2_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKHW			
Kpneumoniae_18_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKH-			
Kpneumoniae_17_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKH-			
Kpneumoniae_16_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKH-			
Kpneumoniae_12_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKH-			
Kpneumoniae_21_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIK--			
Kpneumoniae_14_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIK--			
Kpneumoniae_11_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIK--			
Kpneumoniae_24_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKL-			
Kpneumoniae_25_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKL-			
Rornithinolytica_22_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLI---			
Kpneumoniae_15_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIK--			
Kpneumoniae_1_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGA-----			
HM131427_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKHW			
Kpneumoniae_4_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----			
Kpneumoniae_3_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGA-----			
Kpneumoniae_19_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLI---			
Kpneumoniae_20_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----			
Kpneumoniae_23_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----			
TEM_1_database	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----			
Kpneumoniae_6_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----			
Rornithinolytica_7_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----			
Kpneumoniae_10_TEM_1	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIK--			

Prim.cons.	RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKHW			

Klebsiella SHV 1 :

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans data base sous le numéro : SHV-1 DATABASE.

```

          10          20          30          40          50          60
          |          |          |          |          |          |
SHV_1_database  -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_1_SHV_1 -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_3_SHV_1 -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_9_SHV_1 -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_17_SHV_1 QPIGCIVVMRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_14_SHV_1 -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
          *****
Prim.cons.      QPIGCIVVMRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRT

          70          80          90          100         110         120
          |          |          |          |          |          |
SHV_1_database  LTAWRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIH YRQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_1_SHV_1 LTAWRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIH YRQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_3_SHV_1 LTAWRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIH YRQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_9_SHV_1 LTAWRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIH YRQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_17_SHV_1 LTAWRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIH YRQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_14_SHV_1 LTAWRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIH YRQQDLVDYSPVSEKHLADG
          *****
Prim.cons.      LTAWRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIH YRQQDLVDYSPVSEKHLADG

          130         140         150         160         170         180
          |          |          |          |          |          |
SHV_1_database  MTVGELCAAAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGD
Kpneumoniae_1_SHV_1 MTVGELCAAAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGD
Kpneumoniae_3_SHV_1 MTVGELCAAAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGD
Kpneumoniae_9_SHV_1 MTVGELCAAAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGD
Kpneumoniae_17_SHV_1 MTVGELCAAAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGD
Kpneumoniae_14_SHV_1 MTVGELCAAAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGD
          *****
Prim.cons.      MTVGELCAAAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGD

          190         200         210         220         230         240
          |          |          |          |          |          |
SHV_1_database  ARDTTTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTG
Kpneumoniae_1_SHV_1 ARDTTTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTG
Kpneumoniae_3_SHV_1 ARDTTTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTG
Kpneumoniae_9_SHV_1 ARDTTTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTG
Kpneumoniae_17_SHV_1 ARDTTTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTG
Kpneumoniae_14_SHV_1 ARDTTTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTG
          *****
Prim.cons.      ARDTTTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTG

          250         260         270         280         290
          |          |          |          |          |
SHV_1_database  AGERGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
Kpneumoniae_1_SHV_1 AGERGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
Kpneumoniae_3_SHV_1 AGERGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
Kpneumoniae_9_SHV_1 AGERGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
Kpneumoniae_17_SHV_1 AGERGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
Kpneumoniae_14_SHV_1 AGERGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
          *****
Prim.cons.      AGERGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR

```

Klebsiella SHV 28 :

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans data base sous le numéro : SHV-28 DATABASE.

```

          10          20          30          40          50          60
          |          |          |          |          |          |
SHV_28_database  ----MRFIRLCIIISLLATLPLAVHASQPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
Kpneumoniae_2_SHV_28  ----MRFIRLCIIISLLATLPLAVHASQPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
Kpneumoniae_4_SHV_28  ----MRFIRLCIIISLLATLPLAVHASQPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
Kpneumoniae_25_SHV_28  GCIVVMRFIRLCIIISLLATLPLAVHASQPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
Kpneumoniae_24_SHV_28  ----MRFIRLCIIISLLATLPLAVHASQPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
                    *****
Prim.cons.          GCIVVMRFIRLCIIISLLATLPLAVHASQPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA

          70          80          90          100         110         120
          |          |          |          |          |          |
SHV_28_database  WRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIHYRQQDLVDYSPVSEKHLADGMTV
Kpneumoniae_2_SHV_28  WRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIHYRQQDLVDYSPVSEKHLADGMTV
Kpneumoniae_4_SHV_28  WRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIHYRQQDLVDYSPVSEKHLADGMTV
Kpneumoniae_25_SHV_28  WRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIHYRQQDLVDYSPVSEKHLADGMTV
Kpneumoniae_24_SHV_28  WRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIHYRQQDLVDYSPVSEKHLADGMTV
                    *****
Prim.cons.          WRADERFPM MSTFKVVL CGAVLARVDAGDEQLERKIHYRQQDLVDYSPVSEKHLADGMTV

          130         140         150         160         170         180
          |          |          |          |          |          |
SHV_28_database  GELCAAAITMSDN SAANLLL ATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTR LDRWETELNEALPGDARD
Kpneumoniae_2_SHV_28  GELCAAAITMSDN SAANLLL ATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTR LDRWETELNEALPGDARD
Kpneumoniae_4_SHV_28  GELCAAAITMSDN SAANLLL ATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTR LDRWETELNEALPGDARD
Kpneumoniae_25_SHV_28  GELCAAAITMSDN SAANLLL ATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTR LDRWETELNEALPGDARD
Kpneumoniae_24_SHV_28  GELCAAAITMSDN SAANLLL ATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTR LDRWETELNEALPGDARD
                    *****
Prim.cons.          GELCAAAITMSDN SAANLLL ATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTR LDRWETELNEALPGDARD

          190         200         210         220         230         240
          |          |          |          |          |          |
SHV_28_database  TTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTGAGE
Kpneumoniae_2_SHV_28  TTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTGAGE
Kpneumoniae_4_SHV_28  TTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTGAGE
Kpneumoniae_25_SHV_28  TTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTGAGE
Kpneumoniae_24_SHV_28  TTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDR VAGPLIRSVLPAGWFIADKTGAGE
                    *****

          250         260         270         280         290
          |          |          |          |          |
SHV_28_database  RGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAA LIEHWQR
Kpneumoniae_2_SHV_28  RGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAA LIEHWQR
Kpneumoniae_4_SHV_28  RGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAA LIEHWQR
Kpneumoniae_25_SHV_28  RGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAA LIEHWQR
Kpneumoniae_24_SHV_28  RGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAA LIEHWQR
                    *****
Prim.cons.          RGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAA LIEHWQR
```

Klebsiella SHV 11 :

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans data base sous le numéro : SHV-11-DATABASE.

```

          10          20          30          40          50          60
          |          |          |          |          |          |
Kpneumoniae_19_SHV_11  SPLGCIVVMRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_23_SHV_11  ----CIVVMRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_20_SHV_11  ----CIVVMRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_15_SHV_11  -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_13_SHV_11  -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_12_SHV_11  -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_11_SHV_11  -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_10_SHV_11  -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_8_SHV_11   -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_6_SHV_11   -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_5_SHV_11   -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
SHV_11_database        -----MRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
Kpneumoniae_21_SHV_11  --LSGIVVMRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT
                          *****
Prim.cons.             SPL2CIVVMRYIRLCIIISLLATLPLAVHASPPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRT

          70          80          90          100         110         120
          |          |          |          |          |          |
Kpneumoniae_19_SHV_11  LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_23_SHV_11  LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_20_SHV_11  LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_15_SHV_11  LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_13_SHV_11  LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_12_SHV_11  LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_11_SHV_11  LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_10_SHV_11  LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_8_SHV_11   LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_6_SHV_11   LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_5_SHV_11   LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
SHV_11_database        LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
Kpneumoniae_21_SHV_11  LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
                          *****
Prim.cons.             LTAWRADERFPMMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHyrQQDLVDYSPVSEKHLADG
```

	190	200	210	220	230	240
Kpneumoniae_19_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_23_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_20_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_15_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_13_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_12_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_11_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_10_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_8_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_6_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_5_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
SHV_11_database	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				
Kpneumoniae_21_SHV_11	ARDTTT	PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG				

Prim.cons.

ARDTTT PASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTG

	250	260	270	280	290
Kpneumoniae_19_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_23_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_20_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_15_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_13_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_12_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_11_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_10_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_8_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_6_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_5_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
SHV_11_database	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				
Kpneumoniae_21_SHV_11	AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR				

Prim.cons.

AGERGARGIVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR

Klebsiella SHV-60 :

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans data base sous le numéro : SHV-60 DATABASE.

```

          10      20      30      40      50      60
          |      |      |      |      |      |
SHV_1x0  -----MRYIRLCIISLLATLPLAVHASPPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLT
Kpneumoniae_18_SHV_60  LGCIVVMRYIRLCIISLLATLPLAVHASPPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLT
                          *****
Prim.cons.  LGCIVVMRYIRLCIISLLATLPLAVHASPPLEQIK2SESQLSGRVGMIEMDLASGRTLT

          70      80      90     100     110     120
          |      |      |      |      |      |
SHV_1x0  AWRADERFPMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHYRQQDLVDYSPVSEKHLADGMT
Kpneumoniae_18_SHV_60  AWRADERFPMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHYRQQDLVDYSPVSEKHLADGMT
                          *****
Prim.cons.  AWRADERFPMSTFKVVLCGAVLARVDAGDEQLERKIHYRQQDLVDYSPVSEKHLADGMT

          130     140     150     160     170     180
          |      |      |      |      |      |
SHV_1x0  VGELCAAITMSDNAAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGDAR
Kpneumoniae_18_SHV_60  VGELCAAITMSDNAAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGDAR
                          *****
Prim.cons.  VGELCAAITMSDNAAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGDAR

          190     200     210     220     230     240
          |      |      |      |      |      |
SHV_1x0  DTTTPASMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWVDDRVRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTGAG
Kpneumoniae_18_SHV_60  DTTTPASMTATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWVDDRVRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTGAG
                          *****
Prim.cons.  DTTTPASM2ATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWVDDRVRVAGPLIRSVLPAGWFIADKTGAG

          250     260     270     280     290
          |      |      |      |      |
SHV_1x0  ERGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
Kpneumoniae_18_SHV_60  ERGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
                          *****
Prim.cons.  ERGARGIVALLGPNNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
```

E.coli :

E.coli CTX-M-15 :

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans la GenBank sous le numéro de code :
GQ385307

```

                                190      200      210      220      230      240
                                |        |        |        |        |
Ecoli_6_CTX_M15                -----ATGGCCGCG
Ecoli_7_CTX_M15                -----ATGGCCGCG
Ecoli_4_CTX_M15                -----ATGGCCGCG
Ecoli_GQ385307_CTX_M15        ATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATGGCCGCG
Ecoli_2_CTX_M15                -----TATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATGGCCGCG
Ecoli_1_CTX_M15                -----TATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATGGCCGCG
Ecoli_3_CTX_M15                -----TATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATGGCCGCG
                                *****
Prim.cons.                     ATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCTATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATGGCCGCG

                                250      260      270      280      290      300
                                |        |        |        |        |
Ecoli_6_CTX_M15                GCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACC GAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATC
Ecoli_7_CTX_M15                GCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACC GAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATC
Ecoli_4_CTX_M15                GCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACC GAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATC
Ecoli_GQ385307_CTX_M15        GCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACC GAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATC
Ecoli_2_CTX_M15                GCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACC GAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATC
Ecoli_1_CTX_M15                GCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACC GAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATC
Ecoli_3_CTX_M15                GCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACC GAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATC
                                *****
Prim.cons.                     GCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACC GAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATC

                                310      320      330      340      350      360
                                |        |        |        |        |
Ecoli_6_CTX_M15                AAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATG
Ecoli_7_CTX_M15                AAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATG
Ecoli_4_CTX_M15                AAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATG
Ecoli_GQ385307_CTX_M15        AAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATG
Ecoli_2_CTX_M15                AAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATG
Ecoli_1_CTX_M15                AAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATG
Ecoli_3_CTX_M15                AAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATG
                                *****
Prim.cons.                     AAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATG
```

E.coli TEM-1 :

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans la GenBank sous le numéro de code :
Gf3SD01-21

```

                130      140      150      160      170      180
                |        |        |        |        |        |
gF3SD01_21      CSAAITMSDNTAANLLLLTTIGGPKELTAFLHNMGDHSVTRLDRWEPPELNEAIPNDERDTTM
Ecoli_1_TEM_1   CSAAITMSDNTAANLLLLTTIGGPKELTAFLHNMGDHSVTRLDRWEPPELNEAIPNDERDTTM
Ecoli_2_TEM_1   CSAAITMSDNTAANLLLLTTIGGPKELTAFLHNMGDHSVTRLDRWEPPELNEAIPNDERDTTM
Ecoli_3_TEM_1   CSAAITMSDNTAANLLLLTTIGGPKELTAFLHNMGDHSVTRLDRWEPPELNEAIPNDERDTTM
Ecoli_4_TEM_1   CSAAITMSDNTAANLLLLTTIGGPKELTAFLHNMGDHSVTRLDRWEPPELNEAIPNDERDTTM
Ecoli_7_TEM_1   CSAAITMSDNTAANLLLLTTIGGPKELTAFLHNMGDHSVTRLDRWEPPELNEAIPNDERDTTM
Ecoli_5_TEM_1   CSAAITMSDNTAANLLLLTTIGGPKELTAFLHNMGDHSVTRLDRWEPPELNEAIPNDERDTTM
                *****
Prim.cons.      CSAAITMSDNTAANLLLLTTIGGPKELTAFLHNMGDHSVTRLDRWEPPELNEAIPNDERDTTM

                190      200      210      220      230      240
                |        |        |        |        |        |
gF3SD01_21      PAAMATTLRKLLTGELLTLASRQQLIDWMEADKVAGPLLRSALPAGWFIADKSGAGERGS
Ecoli_1_TEM_1   PAAMATTLRKLLTGELLTLASRQQLIDWMEADKVAGPLLRSALPAGWFIADKSGAGERGS
Ecoli_2_TEM_1   PAAMATTLRKLLTGELLTLASRQQLIDWMEADKVAGPLLRSALPAGWFIADKSGAGERGS
Ecoli_3_TEM_1   PAAMATTLRKLLTGELLTLASRQQLIDWMEADKVAGPLLRSALPAGWFIADKSGAGERGS
Ecoli_4_TEM_1   PAAMATTLRKLLTGELLTLASRQQLIDWMEADKVAGPLLRSALPAGWFIADKSGAGERGS
Ecoli_7_TEM_1   PAAMATTLRKLLTGELLTLASRQQLIDWMEADKVAGPLLRSALPAGWFIADKSGAGERGS
Ecoli_5_TEM_1   PAAMATTLRKLLTGELLTLASRQQLIDWMEADKVAGPLLRSALPAGWFIADKSGAGERGS
                *****
Prim.cons.      PAAMATTLRKLLTGELLTLASRQQLIDWMEADKVAGPLLRSALPAGWFIADKSGAGERGS

                250      260      270      280
                |        |        |        |
gF3SD01_21      RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKHW
Ecoli_1_TEM_1   RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----
Ecoli_2_TEM_1   RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----
Ecoli_3_TEM_1   RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----
Ecoli_4_TEM_1   RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----
Ecoli_7_TEM_1   RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----
Ecoli_5_TEM_1   RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASL----
                *****
Prim.cons.      RGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEIGASLIKHW
```

E.coli SHV 12:

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans la GenBank sous le numéro de code : **NC-009650**.

```

          10          20          30          40          50          60
          |           |           |           |           |           |
Kpneumoniae_NC_009650_SHV_12  MRYIRLCIISLLATLPLAVHASQPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTAWRADE
Ecoli_7_SHV_12                MRYIRLCIISLLATLPLAVHASQPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTAWRADE
Ecoli_6_SHV_12                MRYIRLCIISLLATLPLAVHASQPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTAWRADE
*****
Prim.cons.                    MRYIRLCIISLLATLPLAVHASQPQPLEQIKQSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTAWRADE

          70          80          90          100         110         120
          |           |           |           |           |           |
Kpneumoniae_NC_009650_SHV_12  RFPMMSTFKVVLGAVLARVDAGDEQLERKIHRYQQDLVDYSPVSEKHLADGMTVGELCA
Ecoli_7_SHV_12                RFPMMSTFKVVLGAVLARVDAGDEQLERKIHRYQQDLVDYSPVSEKHLADGMTVGELCA
Ecoli_6_SHV_12                RFPMMSTFKVVLGAVLARVDAGDEQLERKIHRYQQDLVDYSPVSEKHLADGMTVGELCA
*****
Prim.cons.                    RFPMMSTFKVVLGAVLARVDAGDEQLERKIHRYQQDLVDYSPVSEKHLADGMTVGELCA

          130         140         150         160         170         180
          |           |           |           |           |           |
Kpneumoniae_NC_009650_SHV_12  AAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGDARDTTTPA
Ecoli_7_SHV_12                AAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGDARDTTTPA
Ecoli_6_SHV_12                AAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGDARDTTTPA
*****
Prim.cons.                    AAITMSDNSAANLLLATVGGPAGLTAFLRQIGDNVTRLDRWETELNEALPGDARDTTTPA

          190         200         210         220         230         240
          |           |           |           |           |           |
Kpneumoniae_NC_009650_SHV_12  SMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRAGPLIRSVLPAGWFIADKTGASKRGARG
Ecoli_7_SHV_12                SMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRAGPLIRSVLPAGWFIADKTGASKRGARG
Ecoli_6_SHV_12                SMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRAGPLIRSVLPAGWFIADKTGASKRGARG
*****
Prim.cons.                    SMAATLRKLLTSQRLSARSQRQLLQWMVDDRAGPLIRSVLPAGWFIADKTGASKRGARG

          250         260         270         280
          |           |           |           |
Kpneumoniae_NC_009650_SHV_12  IVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
Ecoli_7_SHV_12                IVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
Ecoli_6_SHV_12                IVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
*****
Prim.cons.                    IVALLGPNKAERIVVIYLRDTPASMAERNQQIAGIGAALIEHWQR
```

Enterobacter cloacae :

Enterobacter cloacae TEM-1 :

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans la GenBank sous le numéro de code :
GQ343053

```

                                     10      20      30      40      50      60
Enterobacter_2_TEM_1  MSIQHFRVALIPFFAAFCCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Enterobacter_3_TEM_1  MSIQHFRVALIPFFAAFCCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
GQ343053_TEM_1       MSIQHFRVALIPFFAAFCCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Enterobacter_1_TEM_1  MSIQHFRVALIPFFAAFCCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Enterobacter_7_TEM_1  -SIQHFRVALIPFFAAFCCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Enterobacter_6_TEM_1  --IQHFRVALIPFFAAFCCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
Enterobacter_8_TEM_1  ---QHFRVALIPFFAAFCCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP
*****
Prim.cons.           MSIQHFRVALIPFFAAFCCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRP

                                     70      80      90      100     110     120
Enterobacter_2_TEM_1  EERFPPMSTFKVLLCGAVLSRVDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTEKHLTDGMTVREL
Enterobacter_3_TEM_1  EERFPPMSTFKVLLCGAVLSRVDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTEKHLTDGMTVREL
GQ343053_TEM_1       EERFPPMSTFKVLLCGAVLSRVDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTEKHLTDGMTVREL
Enterobacter_1_TEM_1  EERFPPMSTFKVLLCGAVLSRVDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTEKHLTDGMTVREL
Enterobacter_7_TEM_1  EERFPPMSTFKVLLCGAVLSRVDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTEKHLTDGMTVREL
Enterobacter_6_TEM_1  EERFPPMSTFKVLLCGAVLSRVDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTEKHLTDGMTVREL
Enterobacter_8_TEM_1  EERFPPMSTFKVLLCGAVLSRVDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTEKHLTDGMTVREL
*****
Prim.cons.           EERFPPMSTFKVLLCGAVLSRVDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTEKHLTDGMTVREL

                                     130     140     150     160     170     180
Enterobacter_2_TEM_1  CSAAITMSDNTAANLLLTIGGPKELTAFLNMGDHSVTRLDRWEPELNEAIPNDERDTTM
Enterobacter_3_TEM_1  CSAAITMSDNTAANLLLTIGGPKELTAFLNMGDHSVTRLDRWEPELNEAIPNDERDTTM
GQ343053_TEM_1       CSAAITMSDNTAANLLLTIGGPKELTAFLNMGDHSVTRLDRWEPELNEAIPNDERDTTM
Enterobacter_1_TEM_1  CSAAITMSDNTAANLLLTIGGPKELTAFLNMGDHSVTRLDRWEPELNEAIPNDERDTTM
Enterobacter_7_TEM_1  CSAAITMSDNTAANLLLTIGGPKELTAFLNMGDHSVTRLDRWEPELNEAIPNDERDTTM
Enterobacter_6_TEM_1  CSAAITMSDNTAANLLLTIGGPKELTAFLNMGDHSVTRLDRWEPELNEAIPNDERDTTM
Enterobacter_8_TEM_1  CSAAITMSDNTAANLLLTIGGPKELTAFLNMGDHSVTRLDRWEPELNEAIPNDERDTTM
*****
Prim.cons.           CSAAITMSDNTAANLLLTIGGPKELTAFLNMGDHSVTRLDRWEPELNEAIPNDERDTTM
```

Enterobacter cloacae CTX-M-15 :

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans la GenBank sous le numéro de code :
HQ256749

```

                                     10      20      30      40      50      60
Salmon_HQ256746_CTX_M15  ERFAMCSTSKVMAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELS
Enterobacter_8_CTX_M15   ----MCSTSKVMAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELS
Enterobacter_1_CTX_M     -----TSKVMAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELS
Enterobacter_7_CTX_M15   -----VIAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELS
Enterobacter_6_CTX_M15   -----VIAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELS
Enterobacter_2_CTX_M15   -----MAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELS
Enterobacter_3_CTX_M15   -----AAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELS
*****
Prim.cons.           ERFAMCSTSKVMAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELS
```

Morganella moragnii

Le gène identifié dans notre étude a été décrit dans la GenBank sous le numéro de code :**HQ256746**.

```

              10      20      30      40      50      60
              |      |      |      |      |      |
HQ256746_CTX_M_15  MCSTSKVMAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELSAAL
Mmorgani_1_CTX_M_15 MCSTSKVMAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELSAAL
Mmorgani_3_CTX_M_15 MCSTSKVMAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELSAAL
Mmorgani_2_CTX_M_15 MCSTSKVMAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELSAAL
*****
Prim.cons.        MCSTSKVMAAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTMSLAELSAAL

              70      80      90      100     110     120
              |      |      |      |      |      |
HQ256746_CTX_M_15  QYSDNVAMNKLIAHVGGPASVTAFARQLGDETFRLDRTEPTLNTAIPGDPRDTTSPRAMA
Mmorgani_1_CTX_M_15 QYSDNVAMNKLIAHVGGPASVTAFARQLGDETFRLDRTEPTLNTAIPGDPR-----
Mmorgani_3_CTX_M_15 QYSDNVAMNKLIAHVGGPASVTAFARQLGDETFRLDRTEPTLNTAIPGDPR-----
Mmorgani_2_CTX_M_15 QYSDNVAMNKLIAHVGGPASVTAFARQLGDETFRLDRTEPTLNTAIPGDPR-----
*****
Prim.cons.        QYSDNVAMNKLIAHVGGPASVTAFARQLGDETFRLDRTEPTLNTAIPGDPRDTTSPRAMA
```

Résultats du séquençage des gènes codant les BLSE

Tableau 47: gènes identifiés après séquençage

Espèce	Nombre	BLSE			NDM-1
		TEM	SHV	CTX-M	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	TEM-1	SHV-11	CTX-M-15	
	3	-	SHV-11	CTX-M-15	
	3	TEM-1	SHV-28	CTX-M-15	
	4	TEM-1	SHV-1	CTX-M-15	
	1	-	SHV-1	CTX-M-15	-
	1	TEM-1	SHV-60	CTX-M-15	
	1	TEM-1	-	CTX-M-15	
	1	-	-	CTX-M-15	
	1	TEM-1	SHV-28	-	
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2	TEM-1	-	CTX-M-15	-
<i>Escherichia coli</i>	4	TEM-1	-	CTX-M-15	
	1	-	SHV-12	CTX-M-15	
	1	TEM-1	SHV-12	CTX-M-15	-
	1	-	-	CTX-M-15	
<i>Enterobacter cloacae</i>	6	TEM-1	-	CTX-M-15	
	1	-	-	CTX-M-15	-
<i>Morganella morganii</i>	2	TEM-1	-	CTX-M-15	
	1	-	-	CTX-M-15	-

(- : négatif).

5-Résultats de la recherche des gènes Mec A, de la toxine TSST et de la leucocidine de pantone Valentine (PVL) chez des souches de *Staphylococcus aureus* :

L'étude moléculaire à la recherche de ces gènes a été effectuée par PCR en temps réel, et a donné les résultats suivants :

- Toutes les souches expriment le gène MecA,
- 01 seule souche exprime le gène PVL
- Aucune souche n'exprime le gène TSST.

Légende pour lecture et interprétation des résultats:

N° M : souche de *Staphylococcus aureus* pour le gène Mec A

N° T : souche de *Staphylococcus aureus* pour la TSST.

N° : souche de *Staphylococcus aureus* pour la PVL.

T+ : témoin positif

T- : témoin négatif.

Run Name : KAMEL301110

User Name : Default User

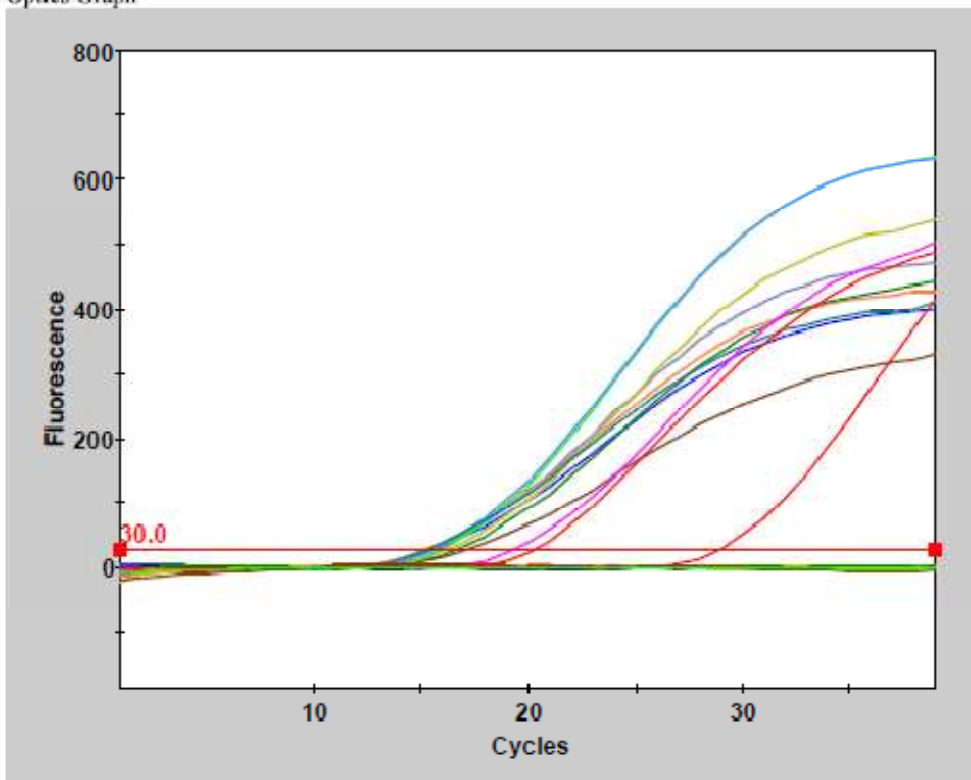
Run Date : Nov 30, 2010 05:16 PM

Results Table

Site ID	Protocol	Sample ID	Sample Type	Notes	Status	FAM Std/Res	FAM Ct	Cy3 Std/Res	Cy3 Ct
A1	Biomol-40 ct-UDG	759 M	UNKN		OK	POS	15.75	NEG	0.00
A2	Biomol-40 ct-UDG	832 M	UNKN		OK	POS	15.62	NEG	0.00
A3	Biomol-40 ct-UDG	838M	UNKN		OK	POS	15.36	NEG	0.00
A4	Biomol-40 ct-UDG	903M	UNKN		OK	POS	16.77	NEG	0.00
A5	Biomol-40 ct-UDG	755M	UNKN		OK	POS	16.34	NEG	0.00
A6	Biomol-40 ct-UDG	1397M	UNKN		OK	POS	17.31	NEG	0.00
A7	Biomol-40 ct-UDG	847M	UNKN		OK	POS	29.03	NEG	0.00
A8	Biomol-40 ct-UDG	841M	UNKN		OK	POS	16.09	NEG	0.00
A9	Biomol-40 ct-UDG	771M	UNKN		OK	POS	15.75	NEG	0.00
A10	Biomol-40 ct-UDG	T+	UNKN		OK	POS	15.46	NEG	0.00
A11	Biomol-40 ct-UDG	T-	UNKN		OK	POS	19.45	NEG	0.00
A12	Biomol-40 ct-UDG	750T	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A13	Biomol-40 ct-UDG	832T	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A14	Biomol-40 ct-UDG	838T	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A15	Biomol-40 ct-UDG	903T	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A16	Biomol-40 ct-UDG	755T	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
B1	Biomol-40 ct-UDG	1397T	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00

Site ID	Protocol	Sample ID	Sample Type	Notes	Status	FAM Std/Res	FAM Ct	Cy3 Std/Res	Cy3 Ct
B2	Biomol-40 ct-UDG	847T	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
B3	Biomol-40 ct-UDG	841T	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
B4	Biomol-40 ct-UDG	955T	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
B5	Biomol-40 ct-UDG	771T	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
B6	Biomol-40 ct-UDG	T+	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
B7	Biomol-40 ct-UDG	T-	UNKN		OK	POS	20.42	NEG	0.00
B8	Biomol-40 ct-UDG		UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00

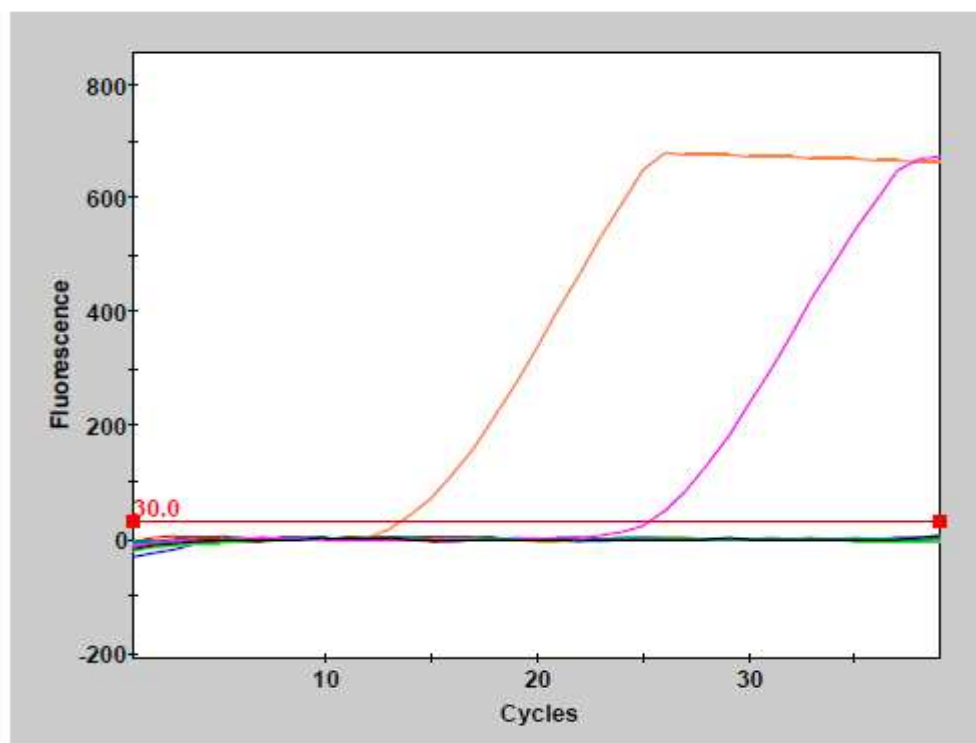
Optics Graph



Run Name : KAMEL 291110
 User Name : Default User
 Run Date : Nov 29, 2010 05:03 PM

Results Table

Site ID	Protocol	Sample ID	Sample Type	Notes	Status	FAM Std/Res	FAM Ct	Cy3 Std/Res	Cy3 Ct
A1	Biomol-40 ct-UDG	750	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A2	Biomol-40 ct-UDG	832	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A3	Biomol-40 ct-UDG	838	UNKN		Warning	POS	13.54	POS	38.85
A4	Biomol-40 ct-UDG	903	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A5	Biomol-40 ct-UDG	755	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A6	Biomol-40 ct-UDG	1397	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A7	Biomol-40 ct-UDG	847	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A8	Biomol-40 ct-UDG	841	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A9	Biomol-40 ct-UDG	955	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A10	Biomol-40 ct-UDG	771	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG	0.00
A11	Biomol-40 ct-UDG	T+	UNKN		Warning	POS	25.21	NEG	0.00
A12	Biomol-40 ct-UDG	T-	UNKN		OK	NEG	0.00	NEG </td <td>0.00</td>	0.00



6-Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches de *Klebsiella pneumoniae*

Tableau 48 :Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches de *Klebsiella pneumoniae*.

Date	Origine	CMI				Phénotype	Type BLSE
		CTX	CRO	CAZ	IMP		
Fév-09	Urine	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal Pef Cip ,SXT Tet C Ft	CTX-M15, TEM-1, SHV-28
Mars-09	Urine	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef Cip, Tetr, Ft	CTX-M15, TEM-1, SHV-1
Mars-09	Hémoc	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef Cip, Tetr, Ft	CTX-M15, TEM-1, SHV-1
Mai-09	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, Ft	CTX-M15, TEM-1, SHV-28
Juin-09	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef, Sxt, Tetr, Ft	CTX-M15, TEM-1
Juin-09	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal, Sxt, Tetr	CTX-M15, TEM-1, SHV-60
Août-09	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, Ft, C	CTX-M15, TEM-1, SHV-1
Sept-09	Urine	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTG, Nal Pef, Sxt, Tetr, Ft, C	CTX-M15, TEM-1, SHV-1
Oct-09	Urine	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTG, FT	TEM-1, SHV-28
Oct-09	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, Ft	CTX-M15, TEM-1, SHV-28
Nov-09	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef, Sxt, Tetr, Ft	CTX-M15
Nov-09	Hémoc	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, Ft	CTX-M15, TEM-1, SHV-11
Nov-09	Urine	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, Ft	CTX-M15, TEM-1, SHV-11

CTX : céfotaxime, CRO : ceftriaxone, CAZ : ceftazidime, IMP : imipénème.

Tableau 48:Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches de *Klebsiella pneumoniae*(suite).

Date	Origine	CMI (µg/ml)				Phénotype	Type BLSE
		CTX	CRO	CAZ	IMP		
Déc-09	Urine	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal Pef , Sxt, Tetr, Ft	CTX-M15, TEM-1, SHV-11
Déc-09	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal Pef, Sxt, Tetr, Ft	CTX-M15, TEM-1, SHV-11
Jan-10	BLC	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTG, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, FT,	CTX-M15, SHV-1
Mars-10	Hémoc	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal Pef, Sxt, Tetr, Ft,C	CTX-M15, SHV-11
Mars-10	BLC	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTG, Sxt, Tetr, Ft	CTX-M15, SHV-11
Mars-10	Urine	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr	CTX-M15, TEM-1, SHV-11
Mars-10	Hémoc	> 64	> 64	> 64	□ 1	KT, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr	CTX-M15, SHV-11
Juin-10	BLC	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGNet, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, Ft,	CTX-M15, TEM-1, SHV-11
Juin-10	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGNet, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, Ft,	CTX-M15, TEM-1, SHV-11
Juin-10	Urine	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTG, Nal, Sxt, Tetr, Ft,C	CTX-M15, TEM-1, SHV-11
Juin-10	Hémoc	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTG, Nal, Sxt, Tetr, Ft, C	CTX-M15, TEM-1, SHV-11

CTX : céfotaxime, CRO : ceftriaxone, CAZ : ceftazidime, IMP : imipénème.

7-Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches de *Raoultella ornithinolytica*

Tableau 49 :Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches de *Raoultella ornithinolytica*.

Date	Origine	CMI (µg/ml)				Phénotype	Type BLSE
		CTX	CRO	CAZ	IMP		
Oct-09	PPD	256	256	256	□ 1	CTX CRO ATM TCC TZP, GNétKTob, Nal Pef Cip, Tetr Sxt C	CTX-M15, TEM-1
Oct-09	PPD	256	256	256	□ 1	CTX CRO ATM TCC TZP, GNétKTob, Nal Pef Cip, Tetr Sxt C	CTX-M15, TEM-1

CTX : céfotaxime, CRO : ceftriaxone, CAZ : ceftazidime, IMP : imipénème.

8- Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d'*Enterobactercloacae*

Tableau 50:Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d'*Enterobactercloacae*.

Date	Origine	CMI (µg/ml)				Phénotype	Type BLSE
		CTX	CAZ	ATM	IMP		
Juin-09	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTG, Sxt, Tetr, FT, C	CTX-M15, TEM-1
Août-09	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Sxt, Tetr, FT, C	CTX-M15, TEM-1
Nov-09	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef, Sxt, Tetr, FT,	CTX-M15, TEM-1
Mars-10	Urine	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, FT,	CTX-M15, TEM-1
Mars-10	Urine	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef, Sxt, Tetr, FT,	CTX-M15
Avr-10	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, FT,	CTX-M15, TEM-1
Août-10	Hémoc	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANet, Nal Pef Cip, Sxt, Tetr, FT,	CTX-M15, TEM-1

CTX : céfotaxime, CRO : ceftriaxone, CAZ : ceftazidime, IMP : imipénème.

9- Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d'*E.coli*

Tableau 51:Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d'*E.coli*.

Date	Origine	CMI (µg/ml)				Phénotype	Type BLSE
		CTX	CRO	CAZ	IMP		
Jan-09	Urines	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGANét, SXT C FT Tetr	CTX-M15, TEM-1
Fév-09	Urines	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal Pef, SXT, C, Tetr	CTX-M15, TEM-1
Nov-09	Urines	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTG, SXT	CTX-M15, TEM-1
Déc-09	Urines	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal Pef , SXT, C, Tetr	CTX-M15, TEM-1
Fév-10	Urines	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTG, Nal Pef Cip	CTX-M15
Mars-10	Urines	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTGA, Nal, SXT Tetr	CTX-M15, SHV-12
Mai-11	PPD	> 64	> 64	> 64	□ 1	KTG, Nal Pef Cip, SXT, C, Ft, Tetr	CTX-M15, TEM-1, SHV-12

CTX : céfotaxime, CRO : ceftriaxone, CAZ : ceftazidime, IMP : imipénème.

10-Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d'*Acinetobacter baumannii*

Tableau 52: Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d'*Acinetobacter baumannii*

Date	Origine	CMI (µg/ml)						Phénotype	Carbapénemase
		CTX	CRO	CAZ	IMP	CS	RA		
Avr-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Avr-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Avr-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Juil-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, G, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Août-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, G, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Oct-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Oct-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Oct-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Oct-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Oct-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Nov-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Nov-09	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Jan-10	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnTNéT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba

Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d'*Acinetobacter baumannii*

Tableau 52:Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d'*Acinetobacter baumannii*(suite).

Date	Origine	CMI (µg/ml)						Phénotype	Carbapénemase
		CTX	CRO	CAZ	IMP	CS	RA		
Avr-10	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnTNéT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Mai-10	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnTNéT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Oct-10	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba
Oct-10	PPD	> 64	> 64	> 64	> 32	□1	□ 0,5	CAZ, CRO, ATM, TCC, TZP, IMP, GAnT, Pef Cip	Oxa-23, Oxa-51/Isaba

CTX : céfotaxime, CRO : ceftriaxone, CAZ : ceftazidime, IMP : imipénème, CS : colistine, RA : rifampicine.

Discussion :

La surveillance active est une activité essentielle pour la prévention des infections nosocomiales dans les services de réanimation, elle implique la participation et l'implication de plusieurs acteurs de la santé. Le laboratoire de microbiologie de part sa position et les informations dont il dispose et qu'il peut fournir joue un rôle central.

Notre étude comporte 3 volets :

- Une étude des caractéristiques épidémiologiques des IN.
- Une identification des germes responsables d'IN et leur niveau de résistance aux antibiotiques.
- Une caractérisation moléculaire des gènes de résistance des bactéries isolés aux β -lactamines.

Incidence des infections nosocomiales :

Peu de données sur les infections nosocomiales en réanimation dans les pays en développement et en particulier en Afrique du nord ont été rapportées dans la littérature.

Notre étude a porté sur 885 patients admis en réanimation médicale durant les 3 années de surveillance des IN (2009-2010-2011). 149 patients ont acquis au moins une infection nosocomiale durant leur séjour. L'incidence des infections nosocomiales dans le service de réanimation du CHU Annaba est de 16.68 % soit 14.04 IN/1000 patients jours en réanimation. Les taux publiés dans la littérature sont variables. Dans les pays en développement, 14.5 % (22.22 IN/1000 patients jours) au Maroc [24], 24.4 % (39 IN/ 1000 patients jours) au Mexique [165], 9,8 % (11,8 IN/ 1000 jours patients) au Liban [166], 20.5 IN/ 1000 jours en Egypte [25], 13 % (24,9 IN/ 1000 jours patients) au Pérou [168].

Dans les pays plus avancés dans leur développement, l'incidence des infections nosocomiales est parfois plus basse 4,4 % (9.06 IN/1000 patients jours) en Inde [22], 5,3 % (6,4 IN/ 1000 jours patients) en Chine [168]. Parmi les pays industrialisés comme la France (Réseau Réa Raisin), ce taux est légèrement supérieur (13.2 %) [18]. Il est difficile de comparer les chiffres entre les réanimations, l'incidence des infections nosocomiales est variable en fonction des méthodes de surveillance utilisées et en particulier des méthodes diagnostiques, du type de réanimation (médicale, chirurgicale, pédiatrique ou autre), du type de recrutement des patients, des moyens et des mesures préventives mises en œuvre dans l'unité.

Cette différence entre les pays développés et les pays en développement est en rapport avec l'absence de réglementation et de lois régissant les programmes de contrôle des infections nosocomiales et associées aux soins, la limitation des ressources dédiées à la prévention, un nombre insuffisant en personnel médical et paramédical.

Comparaison avec les études de la littérature :

Nos résultats concordent avec les données des pays en développement, les données de la littérature sont présentées dans le tableau 53.

Tableau 53: incidence des IN en réanimation selon les études

Auteur [réf]	Année	Lieu	Série	Type étude	Type de réanimation	Incidence %	Taux d'attaque/ 1000 jours
Leblebicioglu [19]	2007	Turquie	3288	Multicentrique	Médico-chirurgicale	38,3%	33,9
Mehta[22]	2007	Inde	10835	Multicentrique	Médico-chirurgicale	4,4%	9,06
Navoa-Ng[23]	2011	Philippines	4952	Multicentrique	Médico-chirurgicale	-	4,9
Salomao [169]	2008	Brésil	1031	Multicentrique	Médico-chirurgicale	29,80 %	29,8
Guanche[170]	2006	Cuba	1982	Multicentrique	Médico-chirurgicale	22,4 %	30,6
Moreno C.A[171]	2006	Colombie	2172	Multicentrique	Médico-chirurgicale	12,2%	18,2
Rosenthal[172]	2006	55 USI pays développés	21069	Multicentrique	Médico-chirurgicale	14,70 %	22,5
AL Aly NY [173]	2008	Koweït	1173	Monocentrique	Médicale	7,50 %	1,2
Kübler A [174]	2012	Pologne	847	Monocentrique	Médico-chirurgicale	24,30 %	21,9
Tao L [168]	2011	Shanghai	391527	Multicentrique	Médico-chirurgicale	5,30 %	6,4
Ji-Guang[175]	2009	Chine	1980	Monocentrique	Médicale	26,8 %	50,1
Réa-raisin [18]	2013	France	27722	Multicentrique	Médico-chirurgicale	13,1%	-
Madani[24]	2009	Maroc	1731	Monocentrique	Médicale	14,5%	22,2
A El-Kholy[19]	2012	Egypte	1101	Multientrique	Médicale	19,3 %	20,5
n étude	2013	Algérie	885	Monocentrique	Médicale	16,68 %	14,08

USI : unités de soins intensifs

Caractéristiques des patients :

Age :

La moyenne d'âge de nos patients est de 46 ans. Toutes les tranches d'âge sont touchées par les IN, aucune différence statistiquement significative n'a été retrouvée pour l'âge entre les patients ayant acquis une IN en réanimation et les patients non infectés durant leur séjour en réanimation.

La moyenne d'âge est variable en fonction des études, Madani rapporte que la moyenne d'âge est $42,4 \pm 19,2$ ans, elle est de 45 ± 19 ans pour la série de Nasser Yahia. Rosenthal VD rapporte une moyenne d'âge de 60 ans dans une étude ayant inclus 55 réanimations, alors qu'en Inde la moyenne d'âge est de 56 ans. Cette différence est liée aux caractéristiques du recrutement des services de réanimation.

Le sexe :

Dans notre étude, une légère prédominance masculine est notée avec un sexe ratio de 1,15 sans différence statistiquement significative, les données de la littérature concernant le sexe sont rapportées dans le tableau N°54.

Tableau 54 : caractéristiques des patients

Auteur [réf]	Année	Lieu	Moyenne âge (ans)	Sexe ratio H/F
Hassanzadeh[176]	2008	Iran	$38,3 \pm 13,4$	1,27
Rosenthal[172]	2006	55 USI pays en développement	60	1,47
Madani[24]	2009	Maroc	$42,4 \pm 19,2$	1,1
Mehta[22]	2007	Inde	56	2,93
Nasser Yehia[173]	2008	Koweït	45 ± 19	2,86
Notre étude	2013	Algérie	$46 \pm 17,8$	1,15

USI : unités de soins intensifs.

Ratio exposition aux dispositifs invasifs (REDI):

L'exposition aux dispositifs invasifs en réanimation est très fréquente, les patients ont pu être exposés durant leur séjour en réanimation à un ou plusieurs dispositifs :

- 57,96 % ont été intubés ventilés avec une durée médiane de ventilation de 6 jours,
- 85,87 % ont été porteurs d'une sonde à demeure avec une durée médiane de sondage de 7 jours
- 16,27% ont été porteurs de cathéter veineux central, avec une durée médiane de 9 jours de cathétérisme.

L'exposition à la ventilation mécanique est variable d'une étude à l'autre, allant de 0,12 en Egypte [25] à 0,85 en Colombie [173]. Le sondage urinaire est très fréquent en réanimation, le REDI de notre étude est de 0,85, dans la littérature ce taux varie de 0,19 [25] à 0,95 [173].

En comparant nos REDI avec ceux de la littérature, il apparaît clairement que le REDI CVC dans notre étude est plus faible que celui rapporté dans d'autres études, seules les études de Madani au Maroc et A El-Kholy en Egypte rapportent des REDI CVC très proches de notre série (0,11 et 0,19), les autres séries rapportent un ratio d'exposition 4 à 5 fois supérieur au notre.

Les ratios d'exposition aux dispositifs sont variables d'une étude à l'autre, mais il n'existe pas de différence entre les pays développés et les pays en développement. Ceci peut s'expliquer par le type de recrutement, l'état de gravité à l'admission nécessitant la mise en place de dispositifs invasifs pour suppléer les fonctions vitales, la place de la ventilation non invasive dans la prise en charge de l'insuffisance respiratoire aiguë, les moyens et ressources disponibles pour la réduction de l'exposition au dispositif (ex : les étuis péniens pour la réduction du sondage urinaire).

Tableau 55 : REDI selon les études de la littérature.

Auteur [réf]	Année	Lieu	REDI		
			VM	SU	CVC
Leblebicioglu [19]	2007	Turquie	0,63	0,94	0,61
Mehta [22]	2007	Inde	0,26	0,58	0,70
Navoa-Ng [23]	2011	Philippines	0,49	0,66	0,27
Salomao [169]	2008	Brésil	0,63	0,86	0,92
Guanche [170]	2006	Cuba	0,44	0,74	0,68
Moreno [171]	2006	Colombie	0,85	0,79	0,59
Rosenthal [172]	2006	55 USI pays en développement	0,38	0,73	0,54
Al Aly NY [173]	2008	Koweït	0,77	0,96	0,55
Kübler A [174]	2012	Pologne	0,76	0,93	0,93
Madani [24]	2009	Maroc	0,28	0,60	0,19
A El-Kholy[25]	2012	Egypte	0,12	0,19	0,11
Cette étude	2013	Algérie	0,55	0,85	0,15

REDI : ratio exposition dispositif invasif. VM : ventilation mécanique, SU : sonde urinaire, CVC : cathéter veineux central.

Site prédominant :

Les pneumopathies constituent le site infectieux le plus prédominant (67 %) dans notre série avec une densité d'incidence de 33.06 / 1000 jours de ventilation invasive. Plusieurs études dans les pays en développement ont rapporté une prédominance des PAVM par rapport aux autres sites. Au Maroc l'incidence des pneumopathies est 54.6 % avec une densité d'incidence de 43.16 /1000 jours de ventilation [24], de même qu'en Egypte et au Koweït avec respectivement des densités incidence de 30 et 9,1 pneumopathies pour 1000 jours de ventilation [25, 173], 53 % des infections en Turquie avec une densité d'incidence de 27,1 pneumopathies /1000 jours de ventilation [177]. Dans les pays développés, le site infectieux prédominant peut être différent : la prédominance des PAVM a été rapportée par plusieurs études, avec 14,14 pneumopathies/ 1000 jours de ventilation en France [18], et 15,8 pneumopathies/1000 jours de ventilation rapportées par INICC [178]. D'autres auteurs rapportent une fréquence plus élevée des bactériémies liées aux cathéters et des infections

urinaires. En Inde [22] et en Colombie [171], les bactériémies liées aux CVC sont les sites infectieux prédominants avec respectivement 61.3 % (densité d'incidence de 7.92 BLC/ 1000 jours de cathétérisme central) et 47,4 % des infections nosocomiales (densité d'incidence de 11,3 BLC/ 1000 jours de cathétérisme). Les infections urinaires prédominent en Corée avec 3.87 infection /1000 jours de sondage [179] et au Brésil avec un taux de 37,6 % des infections nosocomiales [180]. Ces résultats laissent apparaître des différences concernant les infections prédominantes et les taux d'incidence et qui peuvent s'expliquer par les différences des ratio d'exposition aux dispositifs invasifs d'une série à l'autre, la place de la ventilation non invasive, les techniques diagnostiques utilisées, le type de population étudiée, les pathologies prises en charge dans les unités de réanimations, le nombre réduit de lits du service impose une sélection des cas les plus graves, la limitation des ressources dédiées à la prévention avec la réutilisation des sondes d'aspiration chez les patients intubés, un ratio infirmier-patient faible entraînant une surcharge au travail.

Cependant, le taux observé dans cette étude reste élevé, la ventilation artificielle étant une pratique à risque qui nécessite un haut niveau de formation des personnels médicaux et paramédicaux.

Comparaison avec les études de la littérature :

Tableau 56: incidence et densité d'incidence des IN selon les études

Auteur[réf]	Année	Lieu	PAVM		IUN		BLC		BN	
			%	PAVM/1000 j VM	%	IU/1000 j sondage	%	BLC/100 0 j CVC	%	BN/1000 j patient
Leblebicioglu[19]	2007	Turquie	47,40 %	26,50	22,20%	8,3	30,40%	17,6	-	-
Mehta[22]	2007	Inde	29,60 %	10,46	9%	1,41	61,30%	7,92	-	-
Rosenthal [21]	2004	Argentine	34,5%	46,1	31,8%	16,8	33,7%	26	-	-
Navoa-Ng[23]	2010	Philippines	67,2%	16,7	22,4%	4,2	10,4%	4,6	-	-
Hassanzadeh [176]	2009	Iran	65,2%	-	84,7%	-	-	-	23,8%	-
Salomao[169]	2008	Brésil	44,3%	20,9	27,7%	9,6	28%	9,1	-	-
Vallès[181]	2012	Espagne	-	9,1	-	-	-	2,7	-	-
Ji-Guang[175]	2009	Chine	68,4%	-	15,9%	-	-	-	5,9%	-
Moreno[171]	2006	Colombie	32,3%	10	20,3%	4,3	47,4%	11,3	-	-
Guanche-Garcell[170]	2011	Cuba	76%	52,5	20%	8,1	4%	2	-	-
Madani [24]	2009	Maroc	54,6%	43,16	31,9%	11,74	13,5%	15,71	-	-

Tableau 56: incidence et densité d'incidence des IN selon les études (suite).

Auteur	Année	Lieu	PAVM		IUN		BLC		BN	
			%	PAVM/1000 j VM	%	IU/1000 J sondage	%	BLC/100 0 j CVC	%	BN/1000 j patient
Rosenthal [172]	2006	55 Pays en développement	41 %	24,1	29%	8,3	30%	12,5	-	-
Rosenthal[178]	2011	INICC	-	15,8	-	6,3	-	6,8	-	-
Kwak[179]	2010	Corée	-	1,89	-	3,87	-	2,23	-	-
Barba R [165]	2006	Mexique	20,23%	21,8	21,79%	13,4	57,98%	23,1	-	-
Al.Aly[173]	2008	Koweït	33%	9,1	11%	2,3	24%	5,5	-	-
El-Kholy[25]	2012	Egypte	88,7%	30,3	3,1%	2,9	8,2%	9,1	-	-
Edwards[182]	2009	US NHSN	-	2,2	-	3,9	-	1,9	-	-
Réa-Raisin[18]	2010	France	53%	14,92	18,8%	3,73	2,5%	0,66	21,9%	3,63
Notre étude	2013	Algérie	67%	33,1	21%	5,19	2,92%	3,79	8,29%	1,6

Germes en cause :

Les bacilles à Gram négatif restent largement prédominants dans notre étude (87 %), *Klebsiella pneumoniae* est le germe le plus fréquent avec 24,3 % des isolats suivi par *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* avec respectivement 20,8 % et 19,2 %. Les cocci à Gram positif ne représentent que 11 % des germes isolés avec *Staphylococcus aureus* dans la majorité des cas. Ces résultats concordent avec plusieurs études des pays en développement et les pays développés où les bacilles à Gram négatif sont les plus fréquemment incriminés, au Maroc [24], à Cuba [170], en Inde [22], aux Philippines [23], à Shanghai [168], au Koweït [173]. D'autres ont rapportés un pourcentage plus élevé des infections par *Staphylococcus aureus* en Turquie [183] au Pérou [167].

La fréquence des bacilles à Gram négatif est le témoin d'une forte contamination de l'environnement hospitalier par ces bactéries et de l'inefficacité des mesures visant à limiter leur transmission. Il faut souligner que l'écologie bactérienne présentée ici repose sur la sélection de patients présentant une infection cliniquement apparente et pas simplement des données issues du laboratoire.

Ceci est confirmé par l'étude de l'écologie microbienne de l'environnement du service, en effet un tiers des germes isolés au cours des 3 enquêtes étaient des BGN à pouvoir pathogène opportunistes fortement incriminés dans les infections nosocomiales, même si le nombre de souches correspondantes avec les prélèvements cliniques de patients à visée diagnostic reste faible.

Comparaison avec les études de la littérature :

Nos résultats concordent avec la majorité des études publiées et rapportées dans le tableau N°57, les entérobactéries sont les germes les plus prédominants avec des fréquences variables allant de 21% à 46%.

Tableau 57: germes isolés des IN acquises en réanimation

Auteur [réf]	Année	Lieu	Germes isolés				
			<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>S.aureus</i>	Entérobactéries	<i>Candida</i>
Mehta [22]	2007	Inde	27,30%	6,20%	3,10%	46,40%	27,30%
Rosenthal [186]	2004	Argentine	19,7%	21,1%	3,9%	13,2%	6,6%
Hassanzadeh [176]	2009	Iran	18,5%	9,2%	9,2%	24,7%	0%
Salomao [169]	2008	Brésil	22,6%	14,6%	11,3%	22,8%	15,9%
Moreno [171]	2006	Colombie	11,4%	4,5%	25,6%	38,3%	5,1%
Guanche-Garcell [170]	2011	Cuba	17,2%	10,3%	0%	34,4%	0%
Madani [24]	2009	Maroc	23,1%	24,1%	4,6%	32,3%	8,2%
A.Aly [173]	2008	Koweït	16,%	12,6%	5,8%	29,4%	5,04%
El-Kholy [25]	2012	Egypte	22,2%	36,1%	0%	40,2%	0%
Cuellar [167]	2008	Pérou	15,3%	5,4%	22,2%	25,6%	15,3%
Tao [168]	2011	Shanghai	17,2%	19,2%	11,9%	24,3%	10,4%
Dogru [177]	2010	Turquie	18,5%	15,6%	7,8%	21%	12,2%
Notre étude	2013	Algérie	19,2%	20,6%	9,7%	44,7%	1,9%

Germes isolés en fonction du site de l'infection :

Germes isolés au cours des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique :

Les PAVM apparaissent après un délai moyen de $8,39 \pm 5,05$ jours, tous les patients étaient ventilés, et 72,26% des PAVM sont tardives survenant après le 5^{ème} jour de ventilation invasive.

Dans notre série, *Acinetobacter baumannii* est le germe le plus isolé au cours des PAVM soit 31,6 % des cas, suivi du *Pseudomonas aeruginosa* dans 27 % et des entérobactéries avec *Klebsiella pneumoniae* dans 16,6 %.

Les bacilles à Gram négatif sont les germes les plus prédominants, les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter sp* sont les germes les plus isolés, avec des pourcentages variables en fonction des séries. Certains auteurs rapportent une prédominance des entérobactéries au cours des PAVM avec *Klebsiella pneumoniae* comme chef de file, alors que d'autres rapportent une prédominance des BGN non fermentant comme *Pseudomonas sp* ou *Acinetobacter sp*.

La fréquence des levures est variable en fonction des séries allant de 0 % à 13,3%, cette variabilité est en rapport avec les différences dans les critères diagnostic d'une part et de l'état de gravité à l'admission du patient en réanimation.

Comparaison avec les études de la littérature :

Nos résultats se rapprochent de l'étude égyptienne de 2012, présentée dans le tableau 58.

Tableau 58: Germes isolés au cours des PAVM selon les études.

Auteur [réf]	Année	Lieu	Germes isolés PAVM				
			<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>S.aureus</i>	Entérobactéries	<i>Candida.sp</i>
Leblebicioglu [19]	2007	Turquie	26,7%	29,2%	24,2%	14,9%	2 %
Hassanzadeh [176]	2009	Iran	23,3%	10%	10%	20%	13,3%
Ji-Guang [175]	2009	Chine	11,3%	18,9%	11%	19%	9,1%
Guanche-Garcell [170]	2011	Cuba	30,8%	15,4%	0%	38,5%	0%
Rosenthal [172]	2006	55 Pays en développement	26%	20%	22%	26%	3%
El-Kholy [25]	2012	Egypte	25%	36,7%	0%	35%	0%
Tao [168]	2011	Shanghai	23,5%	25,4%	15%	22,3%	1,4%
Richards[65]	2000	USA	15,6%	2,9%	17%	28%	6,9%
Dogru[177]	2010	Turquie	25,4%	22,8%	8,7%	12,2%	7,9%
Notre étude	2013	Algérie	26,8%	31,1%	12,06%	30,4%	0%

Germes isolés au cours des IUN :

Concernant les IUN, la fréquence des germes en cause est variable en fonction des séries, une fréquence élevée pour *Candida* sp a été rapporté par plusieurs études notamment en Turquie, en Chine et à Shanghai. Pour d'autres auteurs les entérobactéries restent les germes les plus isolées au cours des IUN avec des fréquences allant de 20% à 60%. Dans notre étude les entérobactéries sont les germes les plus isolées dans 78%, avec *Klebsiella pneumoniae* et *E.coli* dans 36,5% et 23,8% des cas.

La difficulté d'interprétation des ECBU tient au fait qu'il s'agit le plus souvent d'un prélèvement de patients porteurs de sonde, avec une fréquence élevée des contaminations. De même la présence de levures pose un problème d'interprétation, La constatation d'une candidurie, et plus généralement la présence d'une levure pose des problèmes d'interprétation et les décisions thérapeutiques qui en découlent ne sont pas codifiées.

Bien que les urines soient normalement stériles, une candidurie peut être présente chez 0,2 à 6 % de la population générale. En milieu de réanimation, cette proportion s'échelonne entre 20 à 25 %. Cependant, la candidurie disparaît spontanément sans traitement antifongique dans la majorité des cas, et la morbidité qui lui est associée reste faible. Ces éléments expliquent pourquoi la signification précise d'une candidurie reste un sujet de controverse [185].

La signification d'une candidurie, même si l'on y associe un seuil critique pour séparer colonisation et infection, est aussi controversée. Selon certains, la simple présence de levures dans les urocultures ou à l'examen direct définit la candidurie. Dans d'autres études, la quantification est un critère de définition : une candidurie supérieure ou égale à 10^3 UFC/ml est suffisante pour certaines équipes [186], et supérieure ou égale à 10^4 UFC/ml pour d'autres [187]. D'autres auteurs accordent une valeur d'au moins 10^5 UFC/ml avec des signes d'infection urinaire [188, 189].

Le diagnostic de candidose invasive reste toujours difficile, vu le manque de spécificité des signes cliniques et la faible sensibilité des hémocultures.

Dans notre série, les candiduries (5) étaient associées à un diabète et aucune d'elles n'a évolué vers une candidose systémique, ceci rejoint les résultats de Kauffman qui rapporte dans une revue de la littérature, que sur 861 épisodes de candidurie chez des patients hospitalisés, 39% étaient associées à un diabète et qu'une candidémie n'est apparue que chez 7 d'entre eux (1,4 %) et que deux seulement en sont directement décédés (0,4 %)[190].

Néanmoins la numération des levures dans les urines pourrait permettre de sélectionner les patients à haut risque d'infection fongique ultérieure, devant bénéficier de la recherche d'autres sites de colonisation et du calcul de l'index de Pittet [191].

Comparaison avec les études de la littérature :

Nos résultats se rapprochent des résultats des études de Cuba, d'Iran, de Turquie et des USA rapportées dans le tableau 59.

Tableau 59: Germes isolés au cours des IUN selon les études.

Auteur [réf]	Année	Lieu	Germes isolés des IUN				
			<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>S.aureus</i>	Entérobactéries	<i>Candida.sp</i>
Leblebicioglu [19]	2007	Turquie	12,5%	7,5%	5,3%	24,9%	44,9%
Hassanzadeh [176]	2009	Iran	18,4%	10,5%	2,6%	28,9%	7,8%
Ji-Guang [175]	2009	Chine	1,2%	3,6%	0%	20,3%	33,3%
Guanche-Garcell [170]	2011	Cuba	7,7%	0%	0 %	69,2%	0 %
Rosenthal [172]	2006	55 Pays en développement	13%	4%	4%	42%	30%
El-Kholy[25]	2012	Egypte	0 %	66,7%	0%	0 %	0 %
Tao [168]	2011	Shanghai	3,3%	3%	1,2%	28,4 %	35,7%
Richards[193]	2000	USA	10,3%	0,7%	1,4%	26,6%	24,8%
Dogru[177]	2010	Turquie	2,3%	2,3%	4,6%	40,4%	26,2%
Notre étude	2013	Algérie	6,3%	0%	1,5 %	78,9%	7,9%

Germes isolés au cours des bactériémies liées aux cathéters :

Dans notre série, *Klebsiella pneumoniae* est le germe le plus dominant au cours des BLC, retrouvée dans 91,1% (5/6 BLC), *Staphylococcus aureus* est responsable du 1/6 restant. Plusieurs auteurs rapportent une dominance des BGN au cours des BLC avec des fréquences variables allant de 20% à Shanghai [168] à 66,6% en Egypte [25]. Leblebicioglu a rapporté une fréquence élevée des *Staphylococcus aureus* (23,3%) et de l'*A.baumannii* (23,3%) des cas.

Pour les levures les taux de candidémies nosocomiales rapportées dans les études est variable s'échelonnant de 0% à 14%.

Le nombre faible de BLC (6) rend difficile de faire des comparaisons avec les études de la littérature, un des facteurs important qui peuvent expliquer ce nombre faible de BLC est le ratio d'exposition aux CVC qui est plus bas que ceux rapportés dans les différentes études (0,15 dans notre étude contre 0,55 et 0,9 en Colombie et au Brésil), de même que le nombre de cathéters cultivés après ablation est faible comparé avec les études des pays développés, seuls 24 sur les 165 cathéters (soit 14,5 %) ont été cultivés comparés à 77 % pour le réseau Réa-Raisin. Enfin il est utile de signaler que les critères diagnostiques différent entre les experts américains et les experts européens.

Germes isolés au cours des bactériémies nosocomiales :

Les bactériémies nosocomiales apparaissent après un délai moyen d'hospitalisation de 10,42 ± 2,65 jours, les portes d'entrée retrouvées sont pulmonaire dans 6 cas, urinaire dans 3 cas, et inconnues dans 8 cas (5 patients n'avaient pas de CVC).

Dans notre étude, les entérobactéries sont les plus fréquemment isolées soit 70% des cas, *Klebsiella pneumoniae* constitue l'espèce dominante.

Hassoune et col ont rapporté dans leur étude que les BN sont liées à la présence d'un CVC 5%, une procédure invasive 7% et secondaire à une autre infection dans 21%. Le *Staphylococcus coagulase négative* été le germe le plus dominant soit 19,3% des cas [192].

Tableau 60 : Germes isolés au cours des BL-CVC selon les études.

Auteur [réf]	Année	Lieu	Germes isolés BL-CVC				
			<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>S.aureus</i>	Entérobactéries	<i>Candida.sp</i>
Leblebicioglu [19]	2007	Turquie	11 %	23,2%	23,2%	19,6%	3,4%
Guanche-Garcell [170]	2011	Cuba	0%	33,3%	0%	33,3%	0%
Rosenthal [172]	2006	55 Pays développés	9%	13%	25%	27%	5%
El-Kholy [25]	2012	Egypte	11,1%	22,2%	0%	66,6%	0%
Tao [168]	2011	Shanghai	5,1%	12,3%	15,9%	20,3%	14%
Richards [193]	2000	USA	16,3%	10,2%	8,1%	20,4%	2 %
Dogru [177]	2010	Turquie	0%	0%	16,6%	83,3%	0%
Notre étude	2013	Algérie	0%	0%	8,9%	91,1%	0%

Tableau 61 : Germes isolés au cours des BN selon les études.

Auteur [réf]	Année	Lieu	Germes isolés BN				
			<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>S.aureus</i>	<i>Entérobactéries</i>	<i>Candida.sp</i>
Hassanzadeh [176]	2009	Iran	9 %	0 %	27 %	36 %	0 %
Hassoune [192]	2012	Maroc	4%	13%	8%	22%	0%
Ji-Guang [175]	2009	Chine	9,5 %	9,5 %	14,3 %	21,5%	7,1%
Notre étude	2013	Algérie	5,8%	0%	17,6%	70,5%	0%

Résistance bactérienne aux antibiotiques :

La résistance bactérienne est un problème important de santé publique. Ces dernières années, des taux de résistance croissants ont été rapportés dans plusieurs pays d'Europe et aux États-Unis. Les bactéries multi-résistantes (**BMR**) sont définies comme des bactéries résistantes à trois antibiotiques ou plus. L'émergence de ces bactéries est favorisée par l'antibiothérapie surtout lorsqu'elle est prolongée. Dans les services de réanimation, des taux plus élevés de BMR ont été rapportés pouvant être expliqués par la gravité de l'état des patients, les pathologies sous-jacentes, les techniques invasives utilisées et la transmission croisée. Les infections nosocomiales à BMR sont associées à une mortalité et une morbidité plus importantes que les bactéries sensibles. La cause principale de cette surmortalité est la fréquence de l'antibiothérapie inappropriée chez les patients ayant une infection à BMR [194, 195].

Plusieurs « pressions » sélectives seraient responsables d'une augmentation d'incidence de résistance des germes retrouvés en réanimation. Un exemple est la mauvaise utilisation des antibiotiques, une mauvaise géographie et un espace trop limité des chambres de réanimation, une baisse du nombre du personnel soignant et une augmentation de la charge de travail peuvent aussi expliquer une pression de sélection et l'émergence de résistance [196].

La résistance bactérienne aux antibiotiques dans notre réanimation est alarmante, notamment pour les entérobactéries et les *Acinetobacter baumannii*, 75,6 % des entérobactéries résistent aux C3G avec un pourcentage élevé de production des BLSE, 56,4 % des *Acinetobacter baumannii* et 23,5 % des *Pseudomonas aeruginosa* résistent aux carbapénèmes, ces résultats confirment les données du 12eme rapport du réseau algérien de la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques, 53.82 % des entérobactéries isolées des services de réanimation du réseau sont productrices de BLSE avec 75.1 % pour l'espèce *Klebsiella pneumoniae* qui est le germe le plus isolé dans les réanimations inclus dans ce réseau de surveillance. Alors que la résistance *Acinetobacter sp* à l'imipénème est de 39,3% [26]. Dans le monde les taux de résistance varient d'un pays à l'autre, aux USA, 12,1 % et 18.3 % de résistance aux carbapénèmes chez *Acinetobacter sp* et *Pseudomonas aeruginosa* [197]. En inde 42% des *Pseudomonas* résistent à l'imipénème, et 74,1 % des entérobactéries résistent aux céphalosporines de 3 générations (ceftriaxone) [22], en Turquie, la résistance à l'imipénème des genres *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* est de 63.5 % et 26.1 % respectivement, alors que 88 % des *Klebsiella pneumoniae* résiste à la ceftazidime [198].

Plusieurs facteurs peuvent expliquer l'émergence des résistances bactériennes au sein de notre unité, la capacité de dissémination et de transmission des gènes de résistance en particulier les BLSE de bactéries à bactéries et de patients à patients, l'absence du dépistage de BMR chez les patients à risque faute de moyen, la pression de sélection exercée par l'utilisation des antibiotiques tant en milieu hospitalier qu'en médecine de ville, l'automédication et la vente des antibiotiques sans ordonnance avec les conséquences du non respect des doses et des durée des traitements [199]. Tous ces facteurs soulignent l'urgence de la mise en place et le renforcement de stratégies préventives d'une part visant à limiter la diffusion de ces souches par le respect et l'application des précautions standards d'hygiène, et d'autre part la réduction des volumes des antibiotiques en ville et à l'hôpital avec un contrôle plus rigoureux de la prescription et de la vente des antibiotiques pour éviter la diffusion de nouveaux mécanismes de résistance comme les carbapénèmes.

Résistance du *Pseudomonas aeruginosa* :

Considéré longtemps comme un organisme opportuniste, *P.aeruginosa* est clairement reconnu comme un pathogène nosocomial majeur. Il a toujours été considéré comme une cible difficile en thérapeutique.

Dans notre étude, 51 souches ont été identifiées responsables d'IN, réparties en 5 sérotypes : 5 **P2**, 19 **P3**, 7 **P4**, 4 **P6**, 16 **P11**.

Nous avons dénombré au cours de la même période la survenue de 14 épidémies d'infections nosocomiales par ce germe (cas groupés d'infections par le même sérotype et phénotype de résistance), 2 à *P.aeruginosa* P2, 1 à *P.aeruginosa* P4, 1 à *P.aeruginosa* P6, 6 à *P.aeruginosa* P3, et 4 à *P.aeruginosa* P11. Ces épidémies ont impliquées le plus souvent l'infection de 2 à 3 patients en même temps. Une seule épidémie à *P.aeruginosa* P11 a impliqué l'infection de 5 patients en même temps. Il n'y a pas eu d'épidémies ayant impliqués deux sérotype différents en même temps.

De même, pour les prélèvements d'environnement, seule la première enquête a montré une fréquence élevée de contamination de cet environnement par *P.aeruginosa* dans le service de réanimation, alors que pour la deuxième et la troisième enquête *P.aeruginosa* n'a été retrouvé qu'au niveau des lavabos (siphon). Sur les 13 souches isolées de l'environnement du service en 2009, 7 ont présentées un séro-type (**P3**) et un phénotype de résistance (souche sensible) correspondant à celui isolé des prélèvements cliniques de patients hospitalisés (1 main du

personnel, 1 chariot de soin, 1 respirateur, 1 robinet, 1 poignet de porte, 1 lit patient et 1 syphon), ce qui suggère une possible contamination manu-portée par le personnel à partir du point d'eau.

Les mesures de désinfection entreprises ont permis d'interrompre temporairement ces épidémies à *P.aeruginosa*, néanmoins la réapparition des mêmes phénotypes souligne la difficulté de l'éradication complète des réservoirs exogènes d'où l'intérêt du renforcement et la mise en place d'autres moyens et procédés de désinfection. Une **caractérisation moléculaire par PFGE** est indispensable pour l'étude de la clonalité des souches du même sérotype et phénotype de résistance.

Les données épidémiologiques acquises sur *Pseudomonas aeruginosa* dans les services de réanimation depuis quelques années bouleversent l'image univoque ancrée dans les esprits. Le rôle potentiel de l'environnement hydrique comme réservoir de contamination des patients est confirmé [200] mais sa part réelle dans l'acquisition des souches en réanimation est le plus souvent surévaluée. Si au départ *P. aeruginosa* était essentiellement perçu comme un saprophyte de l'environnement, il apparaît à présent également comme un commensal opportuniste (2 à 10 % des patients), Les données complémentaires sur le statut de cette espèce, sur la fréquence du portage chez les patients non infectés, la transmission directe relativement fréquente manu portée de patient à patient ainsi que sa résistance naturelle à de nombreux antibiotiques rapprochent cette espèce des autres pathogènes hospitaliers multi-résistants.

Ces observations nous montrent qu'une part non négligeable des cas d'acquisition de *P. aeruginosa* en réanimation est probablement évitable à la fois par un respect strict de l'hygiène des mains et une maîtrise de la contamination des points d'eau. Et toute surveillance épidémiologique globale devra donc inclure des prélèvements de dépistage.

Concernant la résistance aux antibiotiques, les souches isolées se caractérisent par une sensibilité totale aux principales familles d'antibiotiques contrastant avec une multi-résistance des autres BGN isolés au cours de notre étude notamment *A.baumannii* et les entérobactéries.

12 souches soit 23,5% ont présenté un phénotype de résistance isolé à l'imipénème. Ce taux de résistance est très proche de celui publié par le réseau algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques dans son dernier rapport où la résistance est de 20,5%. Dans la

littérature les taux de résistance à l'imipénème sont variables allant de 10 % à 56% comme rapportés dans le tableau N° 62.

De même, toutes les études ont rapporté des résistances aux autres antibiotiques à des taux variables, nous citerons les taux des principaux antibiotiques utilisés en réanimation : la ceftazidime de 4% [201] à 78% [176], la ciprofloxacine de 11% [201] à 72% [169] et à la gentamycine 18% [202] à 70% [176]. Les souches isolées dans notre étude présentent un profil de résistance particulier, elles sont toutes sensibles avec prédominance de 3 sérotypes P3, P11, et P2 pouvant être en rapport avec un réservoir exogène dont l'éradication n'a pas été possible.

Cette résistance isolée à l'imipénème serait en rapport avec la perte de la porine D2[203].

Comparaison avec les études de la littérature

Tableau 62 : résistance aux antibiotiques du *P.aeruginosa* selon les études

Auteur [réf]	Année	Lieu	CAZ R(%)	IMP R(%)	TZP R(%)	CIP R(%)	GN R(%)	AN R(%)	ATM R(%)
Leblebicioglu [19]	2007	Turquie	50,7	38,7	30	51,1	NT	NT	NT
Mehta [22]	2007	Inde	64,9	42	42,6	28,6	NT	-	-
Navoa-Ng[23]	2010	Philippines	17,6	56,6	33,3	-	-	-	-
Hassanzadeh [176]	2009	Iran	77,8	-	-	66,7	69,2	88,9	-
Salomao [169]	2008	Brésil	75,5	27,7	100	71,3	-	-	-
Ji-Guang [175]	2009	Chine	-	-	-	66,9	-	-	-
Moreno [171]	2006	Colombie	50	19	33,3	40	-	-	-
Madani [24]	2009	Maroc	35,6	13,5	-	-	-	-	-
A El-Kholy[25]	2012	Egypte	-	56,3	-	-	-	-	-
Cuellar [167]	2008	Pérou	62	36,1	29,4	65	-	-	-
Kübler [174]	2012	Pologne	50	28,6	-	35,7	-	-	-
Shio-Shin [202]	2009	Taiwan	15	10	18	17	18	4	21
Zhanel [204]	2008	Canada	74	18,9	9,1	29,6	32	3,8	-
Friendland [205]	2003	USA	14,1	9,7	14,3	34,4	-	4,2	20,1
Makedou[206]	2005	Grèce	35	50	-	50	-	60	-
Oudhuis [201]	2008	Pays bas	4	-	4	11	8	-	-
Bayram [199]	2006	Turquie	71,3	26,1	-	59,2	48,8	29,9	77,1
Jones [207]	2004	USA	17,4	22,1	14,4	33,1	21,5	-	56,4
Jones [207]	2004	canada	13,4	18,2	9	30,2	15,9	-	59,7
Jones [207]	2004	Italie	31,3	27,8	22	38,8	41,7	-	70,4
Jones[207]	2004	Allemagne	14,9	19	10,7	24,4	14,3	-	7,8
Jones [207]	2004	France	14,9	21,4	15,9	40,6	46,1	-	-
AARN [26]	2013	Algérie	-	20,9	-	-	-	-	-
Notre étude	2013	Algérie	0	23,5	0	0	0	0	0

CAZ: ceftazidime, IMP: imipeneme, TZP: piperacilline tazobactam, CIP: ciprofloxacine, GN: gentamicine, AN: amikacine, ATM: aztréonam, NT: non testé.

Résistance de l'*Acinetobacter baumannii* :

Acinetobacter baumannii est un bacille à Gram négatif, c'est un pathogène nosocomial important. Les infections sont difficiles à traiter en raison de sa survie prolongée dans l'environnement hospitalier. Depuis une trentaine d'années, la résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques n'a cessé d'augmenter et des épidémies intra-hospitalières dues à des souches multi-résistantes voire pan-résistantes aux antibiotiques sont régulièrement rapportées [208].

Sa capacité à disséminer et à acquérir rapidement des mécanismes de résistance conduisant parfois à des impasses thérapeutiques a fait d'*A.baumannii* une bactérie souvent redoutée des services de soins intensifs.

Un mystère demeure quant à l'habitat primaire d'*Acinetobacter baumannii*. Bien que l'idée soit répandue que son habitat principal est l'hôpital, il s'agit bien entendu de son habitat secondaire. Jusqu'à ce jour, aucune étude n'a pu démontrer la véritable origine de cette espèce [209]. Dans la littérature, quatre types d'épidémies à *Acinetobacter baumannii* peuvent être décrits : [210]

- Les épidémies **avec source de contamination commune** avec ou sans prédominance d'infections respiratoires.
- Les épidémies **sans source de contamination commune** avec ou sans prédominance d'infections respiratoires.

En l'absence de source commune environnementale identifiée, les épidémies sont plus souvent de longue durée et aboutissent fréquemment à une fermeture du service ou au moins à une interruption des admissions pendant une durée variable.

Dans notre étude, nous rapportons l'implication en particulier d'une souche d'*Acinetobacter baumannii* (phénotype de résistance : **CAZ-CRO-CTX-ATM-TCC-TZP-IMP, G-Tob-An, Pef-Cip**) dans des épidémies (cas groupés d'infection), s'étalant sur toute la période de surveillance malgré toutes les mesures de désinfection entreprises. Ce phénomène a été déjà rapporté par Barnaud G en 2010. Dans son étude, deux souches d'*Acinetobacter baumannii* multi-résistantes étaient impliquées dans des épidémies ayant duré trois années, sans la possibilité de la mise en place d'une réelle source de contamination environnementale malgré la réalisation de 400 prélèvements, et malgré toute les mesures entreprises (renforcement hygiène des mains, dépistage, précautions de type contact), seule une désinfection totale du

service avec du peroxyde d'hydrogène gazeux à forte concentration (hors présence humaine, après fermeture du service) a permis d'éliminer cette souche de manière définitive [211].

La diffusion épidémique est souvent attribuée à la transmission manu-portée. La possibilité de réservoirs dans l'environnement hospitalier a aussi été confirmée par la présence et la survie prolongée du germe sur de nombreux matériels (lits, tables, rideaux, poignées de port...).

L'utilisation croissante des antibiotiques à l'hôpital a contribué à l'émergence et à la diffusion de souches d'*A.baumannii* résistantes à un grand nombre d'antibiotiques dont les β -lactamines à large spectre, les aminosides et les fluoroquinolones.

Le niveau de résistance de l'*Acinetobacter baumannii* dans notre étude est très alarmant, 94,5 % des souches (52 sur les 55 isolées) résistent aux C3G testés (ceftazidime, ceftriaxone) et aux inhibiteurs des β lactamase (ticarcilline+acide clavulanique, piperacilline+tazobactam). Les taux rapportés dans les études sont variables allant de 22 % pour Hassanzadehet al [176] à 100% pour Bayram et al en Turquie [199]. Cette résistance est liée à une hyperproduction d'une céphalosporinase dans 81,8 %, à la production de BLSE dans 7,2 %, et à l'association de CHN et BLSE dans 5,5 %.

Concernant les carbapénèmes considérés comme le traitement de choix des IN à *A.baumannii*, dans notre série la résistance à l'imipénème est de l'ordre de 56% (31 souches sur les 55), les taux rapportés dans la littérature sont variables en fonction des séries, allant de 5,1% pour Friendland en USA [212] à 76% pour l'étude d'El Kholy en Egypte [25].

Plusieurs facteurs de risque d'acquisition d'une infection à *A.baumannii* ont été rapportés dans la littérature, la ventilation mécanique [213, 214, 215], une antibiothérapie à large spectre [216], la sévérité de la pathologie sous-jacente [214, 215], une durée de séjour prolongée [217, 218, 214, 215].

Baran et al ont étudié les facteurs de risque d'acquisition d'une infection par *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème, ils rapportent qu'en analyse multi-variée des facteurs étudiés que cette acquisition est liée à un séjour antérieure dans un service de réanimation, une durée de séjour prolongée et à la pression de sélection d'antibiotiques [218, 219, 220].

Le développement en réanimation de mutants d'*Acinetobacter baumannii* résistants à l'imipénème, responsables de pneumopathies acquises sous ventilation, s'est accéléré au cours des dix dernières années. Ces infections nosocomiales, parmi les plus difficiles à traiter,

sont responsables d'épidémies difficiles à contrôler au sein des services de soins et d'une mortalité importante, le taux de mortalité attribué à une infection par *A.baumannii* varie de 10 % à 43 % pour les patients admis en réanimation.

La colistine suscite un regain d'intérêt pour le traitement des infections à bacilles à Gram négatif multi-résistants en réanimation [221], dans notre série toutes les souches d'*Acinetobacter baumannii* sont sensibles à la colistine, elle pourrait constituer une option thérapeutique.

Cependant il faut rester prudent avec l'usage de la colistine, car dans les études récentes, il règne une confusion et des biais d'interprétation liés aux différentes formes disponibles selon les pays et leur titration en unité internationale (UI) ou milligramme (mg) de colistiméthate ou de colistine base. Le risque est grand de fonder le traitement d'infections nosocomiales sévères avec des posologies probablement insuffisantes [222, 223].

Comparaison avec les études de la littérature :

La résistance du genre *Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques est très alarmante, les niveaux de résistance sont largement supérieurs à tous les chiffres rapportés dans la littérature et présentés dans le tableau N° 63, Les études dans les pays en développement comme l'Égypte, la Turquie et la Grèce rapportent des niveaux de résistance proches de ceux retrouvés dans notre série.

Tableau 63 : niveau de résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques selon les études

Auteur [réf]	Année	Lieu	CAZ R(%)	CRO R(%)	IMP R(%)	TZP R(%)	CIP R(%)	GN R(%)	AN R(%)
Leblebicioglu [19]	2007	Turquie	-	-	-	87,1%	-	-	-
Navoa-Ng [23]	2010	Philippines	-	-	-	67,2%	-	-	-
Hassanzadeh [176]	2009	Iran	22,2%	66,7%	-	-	77%	22,2%	88,9%
Madani [24]	2009	Maroc	-	-	-	78,6	-	-	-
A El-Kholy [25]	2012	Egypte	-	-	76,9	-	88,5	-	-
Kübler [174]	2012	Pologne	-	-	-	44%	-	-	-
Shio-Shin [202]	2009	Taiwan	66	-	12	56	68	71	61
Zhanel [204]	2008	Canada	-	53,6	0	7,1	10,7	10,7	7,1
Friendland [205]	2003	USA	45,1	-	5,1	21,1	57,1	-	13,3
Makedou [206]	2005	Grèce	100	-	41	72	100	-	100
Bayram [199]	2006	Turquie	100	100	63,5	-	56,7	85,1	71,6
Jones [207]	2004	USA	40,8	55,9	7,5	28,5	58	47,2	-
Jones [207]	2004	canada	22,9	28,7	1,9	23,1	25,9	22,8	-
Jones [207]	2004	Italie	36,5	72,6	19	46,4	76,7	72,4	-
Jones [207]	2004	Allemagne	14,5	11,5	3,4	7,5	22,9	14,1	-
Jones [207]	2004	France	35,5	51,9	3,8	10,5	61,2	43,5	-
AARN [26]	2013	Algérie	-	-	39,3	-	-	-	-
Notre étude	2013	Algérie	94,5	94,5	56,4	94,5	74,5	94,5	60

CAZ: ceftazidime, IMP: imipénème, TZP: piperacilline tazobactam, CIP: ciprofloxacine, GN: gentamicine, AN: amikacine, CRO: ceftriaxone.

Entérobactérie :

Les niveaux de résistance des entérobactéries sont très élevés notamment aux β -lactamines avec 75,6 % de résistance à la ceftazidime, ceftriaxone et cefotaxime. Dans la littérature les niveaux de résistance aux C3G sont variables de 28,3% [171] à 75% [22], cependant la résistance à l'association pipéracilline tazobactam est relativement basse avec 4,2 % de résistance par rapport aux taux rapportés dans la littérature,

De nombreuses études ont analysés des facteurs de risque pour l'acquisition de BLSE par un patient hospitalisé le plus souvent dans le service de réanimation. Les principaux facteurs

identifiés sont l'hospitalisation prolongée avec exposition aux dispositifs invasifs chez des patients gravement malades.

Certes dans notre étude toutes les entérobactéries sont sensibles aux carbapénèmes, ces antibiotiques constituent le traitement de choix pour ces IN, néanmoins leur utilisation abusive n'est pas sans conséquence, plusieurs études dans le monde ont rapportée l'émergence d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes par l'association de plusieurs mécanismes de résistance [224]. En Algérie, les premières souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes ont été rapportées dans le service de réanimation de l'hôpital militaire Ain Naaja, cette résistance est liée à la production d'une enzyme de type VIM-19. **Nous rapportons aussi qu'au niveau de notre laboratoire une souche *Klebsiella pneumoniae* résistante aux carbapénèmes a été isolée pour la première fois en 2013, le mécanisme de résistance semble une KPC (identification par automate Walk Away, donnée non publiée).**

Comparaison avec les études de la littérature :

Nos résultats concordent avec les résultats de Salomao au Brésil de 2008 et de Mehta en Inde en 2007.

Tableau 64: Résistance aux antibiotiques des entérobactéries selon les études.

Auteur [réf]	Année	Lieu	CAZ R(%)	CRO R(%)	TZP R(%)	IMP R(%)
Leblebicioglu [19]	2007	Turquie	52	48,2	33,2	-
Mehta [22]	2007	Inde	74,1	71,4	42,6	-
Salomao [169]	2008	Brésil	79,3	96,7	85,7	-
Moreno [171]	2006	Colombie	28,3	40	37,5	-
Cuellar [167]	2008	Pérou	40,8	40,5	32	-
Borcan [225]	2009	Roumanie	68	-	-	0
AARN [26]	2013	Algérie	53,8	-	-	-
Notre étude	2013	Algérie	75,6	75,6	4,2	0

CAZ: ceftazidime, CRO: ceftriaxone, TZP: piperacilline tazobactam, IMP: imipénème,

Résistance du genre *Klebsiella sp* :

Klebsiella pneumoniae est un pathogène à fort potentiel épidémique fréquemment impliqué dans des infections sévères. De nombreuses épidémies nosocomiales dans les unités de réanimation causées par cette bactérie ont été décrites [226, 227].

Le taux de résistance de cette espèce aux C3G est de l'ordre de 81,25%. Il s'agit d'une BLSE dans tous les cas, par contre la résistance à la pipéracilline tazobactam est de l'ordre de 4,6% et aucune souche ne résiste à l'imipénème.

La résistance aux C3G s'échelonne de 2,2 % au Canada [207] à 76,9% en Egypte 2012 [25]. La résistance à l'association pipéracilline tazobactam est faible de l'ordre de 4,6 % très proche des taux publiés par les différentes études même des pays développés.

Concernant les aminosides, les taux de résistance à la gentamycine et à l'amikacine sont également élevés de l'ordre de 71,8% et 45% respectivement, ces taux se rapprochent des ceux rapportés dans les pays en développement comme l'Iran et la Turquie, mais sont très élevés comparés aux taux rapportés dans les réanimations des pays développés (France, Allemagne...)

Le taux de résistance à la ciprofloxacine est de 36%, la résistance à la ciprofloxacine s'échelonne de 4,9% au Canada à 66,6% en Iran.

Deux souches de *Klebsiella oxytoca* sont isolées dans notre série, elles résistent aux C3G par production de BLSE, elles résistent aussi à la gentamycine, l'amikacine et tobramycine, 1 seule souche résiste à la ciprofloxacine. Par contre elles sont sensibles à l'association pipéracilline tazobactam et à l'imipénème.

Globalement, cette espèce bactérienne qui est le germe le plus incriminé dans les IN dans notre série confirme les données de la littérature, la biosynthèse de BLSE chez *K.pneumoniae* restreint considérablement l'arsenal thérapeutique disponible pour le traitement de ces infections sévères d'autant plus que des gènes de résistance à d'autres antibiotiques leurs sont souvent associés notamment les aminosides et les fluoroquinolones.

Comparaison avec les études de la littérature :

Tableau 65: résistance du genre *Klebsiella* aux antibiotiques selon les études

Auteur [réf]	Année	Lieu	CAZ R(%)	CRO R(%)	TZP R(%)	CIP R(%)	IMP R(%)	GN R(%)	AN R(%)
Navoa-Ng [23]	2010	Philippines	53,8	50	-	-	-	-	-
Hassanzadeh [176]	2009	Iran	33,3	44,4	-	66,6	-	55,6	77,8
Madani [24]	2009	Maroc	69,5	75	-	-	-	-	-
A El-Kholy [25]	2012	Egypte	76,9	-	-	-	-	-	-
Kübler [174]	2012	Pologne	13,3	-	-	-	-	-	-
Zhanel [204]	2008	Canada	-	2,2	2,7	4,9	0	1,3	0,4
Makedou [206]	2005	Grèce	90	-	90	50	0	-	50
Bayram [199]	2006	Turquie	84	84	-	20	12	80	16
Jones [207]	2004	USA	10,1	4,7	7,4	8,4	0	7	-
Jones [207]	2004	Canda	2,2	1,1	2,7	7,2	0	2,9	-
Jones [207]	2004	Italie	28,5	15	14,6	9,9	0	14,5	-
Jones [207]	2004	Allemagne	8,2	0,6	8,3	9,4	0	6,1	-
Jones [207]	2004	France	5,2	5,4	5,1	8,7	0	2,7	-
Van der Donk [228]	2011	Allemagne	10,8	-	15,2	18,5	0	11,7	-
AARN[26]	2013	Algérie	75,1	-	-	-	-	-	-
Notre étude	2013	Algérie	81,2	81,2	4,6	36	0	71,8	45,3

CAZ: ceftazidime, CRO: ceftriaxone, TZP: piperacilline tazobactam, CIP: ciprofloxacine, IMP: imipénème, GN: gentamicine, AN: amikacine,

E.coli :

E. coli, bactérie responsable de la majorité des infections urinaires communautaires, est aussi en cause dans de très nombreuses infections nosocomiales. À la différence de *Pseudomonas aeruginosa* ou de *S. aureus*, micro-organismes souvent isolés en réanimation et difficiles à traiter en raison de leur virulence et du choix limité d'antibiotiques à la disposition du clinicien, peu d'études se sont intéressées à *E. coli* en réanimation [229].

Plusieurs enquêtes sur la sensibilité d'*E. coli* aux antibiotiques révèlent que la résistance aux aminopénicillines atteint près d'une souche sur deux et que l'adjonction d'acide clavulanique ne la réduit que de 5 à 10 % [230]. *E. coli* devient une bactérie multi-résistante puisque cette

résistance touche d'autres antibiotiques comme les fluoroquinolones, le triméthoprime-sulfaméthoxazole, ou encore la pipéracilline-tazobactam [231, 232].

Dans notre étude, *E.coli* résiste aux C3G (céfotaxime, ceftazidime, ceftriaxone) dans 33,3%, cette résistance est liée à une production de BLSE dans tous les cas, cependant ces souches sont toutes sensibles à l'association tazobactam pipéracilline, et aux carbapénèmes.

La résistance aux autres familles d'antibiotiques est de 23 % pour la ciprofloxacine, 33% à la gentamycine et 19% à l'amikacine.

Les taux retrouvés dans notre étude sont très élevés, plusieurs études des pays en développement rapportent des taux élevés voir plus élevés, pouvant atteindre 86 % pour les C3G [199]. Cependant, les études des pays développés affichent des taux de résistance très bas s'échelonnant de 1% à 4%. Ceci est valable aussi pour les autres familles d'antibiotiques couramment utilisés en réanimation, avec des niveaux de résistance élevés pour les pays en développement et bas pour les pays développés. La résistance à la ciprofloxacine s'échelonne de 6 % en France à 80% en Chine. Concernant les aminosides, la résistance à la gentamycine varie de 3% au Pays bas à 78% en Turquie, celle de l'amikacine varie de 18% en Turquie à 27% en Iran.

Notons que pour *E.coli* il n'y a pas eu de cas d'infections groupées durant la période de l'étude.

Comparaison avec les études de la littérature :

Les taux de résistance d'*E.coli* se rapprochent de ceux retrouvés dans l'unité de réanimation du Maroc.

Tableau 66: résistance d'*E.coli* selon les études.

Auteur [réf]	Année	Lieu	CAZ R(%)	CRO R(%)	TZP R(%)	CIP R(%)	IMP R(%)	GN R(%)	AN R(%)
Navoa-Ng [23]	2010	Philippines	-	53,3	-	-	-	-	-
Hassanzadeh [176]	2009	Iran	-	-	-	-	-	36,4	27,3
Madani [24]	2009	Maroc	21,7	31,9	-	-	-	-	-
Ji-Guang [207]	2009	Chine	-	82,3	-	80	-	-	-
Kübler [174]	2012	Pologne	14,3	-	-	-	-	-	-
Zhanel [204]	2008	Canada	-	8,8	2,8	21,9	0	7,7	0,2
Oudhuis [201]	2008	Pays bas	1	2	1	9	-	3	-
Bayram [199]	2006	Turquie	86,8	84,2	NT	39,5	13,1	78,9	18,4
Jones [207]	2004	USA	3	1,7	3,6	10,7	0	6,5	-
Jones [207]	2004	Canda	1,6	2,2	2,4	9,5	0	5,3	-
Jones [207]	2004	Italie	3,7	4,2	2,4	12,7	0	6,6	-
Jones [207]	2004	Allemagne	1,6	0,2	3,4	12,4	0	5,2	-
Jones [207]	2004	France	1,2	1	1,1	6,5	0	4,2	-
Notre étude	2013	Algérie	33,3	33,3	0	23,8	0	33,3	19

CAZ: ceftazidime, CRO: ceftriaxone, TZP: piperacilline tazobactam, CIP: ciprofloxacine, IMP: imipénème, GN: gentamicine, AN: amikacine,

Enterobacter sp :

Enterobacter cloacae est un bacille à Gram négatif fréquemment impliqué dans les IN, qui se caractérise par sa capacité à acquérir des résistances aux antibiotiques utilisés en réanimation et est une source de morbidité et de mortalité [233].

Dans notre étude, 12 souches sont responsables d'IN, toutes les souches sont résistantes aux β -lactamines, avec 100% de résistance à la ceftazidime, au céfotaxime et ceftriaxone. Le mécanisme de la résistance est une BLSE dans 91,7 %, une CHN dans 8,3 %. Aucune résistance n'a été détectée pour les carbapénèmes et l'association tazobactam pipéracilline.

La résistance aux aminosides est 91,6% pour la gentamycine et 50% pour l'amikacine, alors que celle de la ciprofloxacine est de 41%.

Dans la littérature, les auteurs rapportent des taux de résistance aux β -lactamines variables mais plus bas que ceux de notre étude, ainsi la résistance à la ceftazidime varie de 20% [176] à 75% [199], pour le ceftriaxone de 3,6% [204] à 68% [24]. Cependant les auteurs ont rapporté une résistance de l'Enterobacter aux carbapénèmes avec des taux de 10% et 15% respectivement au Maroc [24] et aux Philippines [23].

Pour les aminosides, la résistance est variable de 20% en Iran à 81% en Turquie, alors que pour l'amikacine elle est de 40% en Iran et 59% en Turquie. Zhanel et al ont rapporté une résistance à la ciprofloxacine plus basse de l'ordre de 3,6 %.

Comparaison avec les études de la littérature :

Tableau 67: Résistance des *Enterobacter cloacae* aux antibiotiques.

Auteur [réf]	Année	Lieu	CAZ R(%)	CRO R(%)	IMP R(%)	TZP R(%)	CIP R(%)	GN R(%)	AN R(%)
Navoa-Ng [23]	2010	Philippines	-	-	15,4	-	-	-	-
Hassanzadeh [176]	2009	Iran	20	-	-	-	-	20	40
Madani [24]	2009	Maroc	55,6	68,4	10	-	-	-	-
Kübler [174]	2012	Pologne	53,8	-	-	-	-	-	-
Zhanel [204]	2008	Canada	-	3,6	0	15,3	3,6	3	0
Bayram [199]	2006	Turquie	75	59,4	0	-	0	81,2	59,4
Notre étude	2013	Algérie	100	100	0	0	41	91,6	50

CAZ: ceftazidime, CRO: ceftriaxone, TZP: piperacilline tazobactam, CIP: ciprofloxacine, IPM: imipénème, GN: gentamicine, AN: amikacine,

Proteus sp :

Les souches de *Proteus* étudiées dans notre série sont résistantes aux C3G dans 45,5%, cette résistance est liée à la sécrétion de BLSE dans tous les cas, elle est associée à la résistance aux aminosides dans 36,3 % à la gentamycine et l'amikacine.

Les études de la littérature rapportent une résistance aux C3G plus basse, variant de 0,2% à 9,4% pour la ceftazidime et de 0% à 13,8% pour le ceftriaxone. Concernant les aminosides, la résistance est plus basse que celle retrouvée dans notre étude s'échelonnant de 5,9% à 37,2% pour la gentamycine et de 0% à 0,2% pour l'amikacine.

Les souches de *Proteus* étudiées sont caractérisées par leur sensibilité à l'imipenème et à l'association tazobactam pipéracilline. Nos résultats concordent avec les données de la littérature, avec des niveaux de résistance très faible pour tazobactam pipéracilline, et nulle pour l'imipenème, exception faite pour Zhanel et col qui rapportent une résistance de 2,6 % à l'imipenème

Tableau 68: comparaison avec les études de la littérature

Auteur [réf]	Année	Lieu	CAZ R(%)	CRO R(%)	TZP R(%)	CIP R(%)	IMP R(%)	GN R(%)	AN R(%)
Zhanel [204]	2008	Canada	-	5,3	2,6	18	2,6	8	0
Jones[207]	2004	USA	1,1	0,3	0,8	12,7	0	7,7	-
Jones [207]	2004	Canda	0,2	0	0,2	4,6	0	7,2	-
Jones [207]	2004	Italie	9,4	13,8	2,8	22,7	0	37,2	-
Jones [207]	2004	Allemagne	1	0	0,8	5,1	0	5,9	-
Jones [207]	2004	France	0,2	0	0,2	6,8	0	7,9	-
Shawn [224]	2007	USA	1,1	0	1,1	15	0	-	0,2
AARN [26]	2013	Algérie	19,1	-	-	-	-	-	-
Notre étude	2013	Algérie	45,4	45,4	0	0	0	36,3	36,3

CAZ: ceftazidime, CRO: ceftriaxone, TZP: piperacilline tazobactam, CIP: ciprofloxacine, IMP: imipenème, GN: gentamicine, AN: amikacine,

Staphylococcus aureus :

Indicateur du tableau de bord des infections nosocomiales en France, le *Staphylococcus aureus* est considéré comme une bactérie indicatrice référentielle de la résistance aux antibiotiques.

Dans notre étude, le *Staphylococcus aureus* représente 10% des germes isolés, 61% des souches sont résistantes à l'oxacilline, ceci concordent avec les taux rapportés dans la littérature, ce taux est très proche de celui rapporté par le réseau algérien de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans son dernier rapport avec 58% de *Staphylococcus aureus* MRSA+ dans les services de réanimation, alors que dans le monde cette résistance varie de 21% en Allemagne à 95 % au Brésil. Il est à noter qu'à l'inverse de la résistance des BGN, il n'y a pas de différences concernant la résistance du *Staphylococcus aureus* à l'oxacilline entre les pays développés et les pays en développement avec des taux élevé même

dans les pays développés comme les USA et la France avec 58% et 40 % de *Staphylococcus aureus* MRSA+ respectivement.

Toutes les souches isolées sont sensibles aux glycopeptides, ceci est conforme avec les données de la littérature, les études rapportent 0 % de résistance à la vancomycine en Chine, en France, en Allemagne et au Canada.

La résistance aux aminosides dans notre étude est de 61% à la gentamycine, proche de celle rapporté par Jones en Italie qui est de 58%, par contre cette résistance est plus basse en France (9,5%), au Canada (10,3%) et aux USA (13,7%).

Ji-Guang et al ont rapporté dans leur étude une résistance de l'ordre de 68,1% de résistance à la rifampicine, à l'inverse du résultat retrouvé dans notre étude avec 0% de résistance à cet antibiotique, cette différence s'explique par le fait que cet antibiotique est réservé au traitement antituberculeux [207].

Tableau 69: résistance du *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

Auteur [réf]	Année	Lieu	MRSA R(%)	VA R(%)	CIP R(%)	SXT R(%)	RA R(%)	FT R(%)	GN R(%)
Leblebicioglu [19]	2007	Turquie	89,2%	-	-	-	-	-	-
Navoa-Ng [23]	2010	Philippines	84%	-	-	-	-	-	-
Salomao [169]	2008	Brésil	95,7	-	-	-	-	-	-
Ji-Guang [207]	2009	Chine	-	0	89,6	37,9	68,1	24	-
Moreno [207]	2006	Colombie	65,4	-	-	-	-	-	-
Cuellar [167]	2008	Pérou	73,5	-	-	-	-	-	-
Kübler [174]	2012	Pologne	30	-	-	-	-	-	-
Jones [207]	2004	USA	52,3	0	51	-	-	-	13,7
Jones[207]	2004	Canda	19,7	0	24,1	-	-	-	10,3
Jones [207]	2004	Italie	59,4	0	58,6	-	-	-	58
Jones [207]	2004	Allemagne	21	0	26,1	-	-	-	9,7
Jones [207]	2004	France	40,6	0	40,5	-	-	-	9,4
AARN [226]	2013	Algérie	58,1	0	-	-	-	-	-
Notre étude	2013	Algérie	61,5	0	23	-	0	-	61,5

MRSA : *Staphylococcus aureus* methicilline résistant, VA :vancomycine, CIP :ciprofloxacine, SXT :sulfaméthoxasole trimetoprime, RA :rifampicine, FT : furantoines, GN :gentamycine

Résistance aux antibiotiques de *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia* :

Anciennement dénommé *Pseudomonas* en raison de sa capacité à utiliser des substrats nutritifs très variés, *B.cepacia* est l'espèce type du genre *Burkholderia* individualisée en 1993. Bactérie fréquemment rencontrée dans la nature et se comportant comme un pathogène opportuniste de l'homme, impliquée dans les IN notamment pulmonaire en raison de son tropisme pulmonaire. Elles sont particulièrement redoutées en raison de leur impact clinique défavorable et du potentiel épidémique de certaines souches [225]. Espèces naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques posant des problèmes d'antibiothérapie, d'autant même que si les antibiotiques sont actifs in vitro, les résultats obtenus in vivo sont décourageants. Elle résiste naturellement à la ticarcilline, l'imipenème, aux aminosides et aux polymyxines [226, 227, 228].

Le pouvoir de transmission de malade à malade est souvent élevé, et le matériel de ventilation est souvent impliqué dans la transmission croisée.

Dans notre série, 4 souches ont été impliquées dans les IN, présentant un phénotype sauvage de résistance aux antibiotiques. Il n'y a pas eu de cas d'infection groupés.

S. maltophilia est une bactérie ubiquitaire de l'environnement (eau, air, animaux, plantes. . .), mais également un saprophyte de l'homme, colonisant le nez, la gorge et le tube digestif. *S. maltophilia* est devenue une des bactéries les plus fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales, atteignant préférentiellement les immunodéprimés [229].

Une des difficultés est de savoir si ces bactéries sont colonisantes ou infectantes, avirulentes ou virulentes. Classiquement, cette bactérie est connue pour avoir un pouvoir pathogène limité. Cependant, elle peut causer une grande variété d'infections (pneumonies, bactériémies, endocardites, infections des voies urinaires).

Plusieurs études ont confirmé la notion de faible pouvoir pathogène de *S. maltophilia*, les infections causées par cette bactérie n'étaient pas associées à des évolutions défavorables. Pour certains auteurs, *S. maltophilia* est responsable d'une infection clinique seulement quand elle agit en synergie avec d'autres bactéries pathogènes [230].

Dans notre étude, une seule a été isolée au cours d'une PAVM, et il est difficile de porter des comparaisons sur les résistances de cette souche.

Tableau 70: résistance de *Stenotrophomonas maltophilia* et *Bulkhoderia cepacia* selon les études.

Auteur [réf]	Année	Lieu	CAZ R(%)	IMP R(%)	TZP R(%)	CIP R(%)	GN R(%)	AN R(%)	ATM R(%)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>									
Shio-Shin [202]	2009	Taiwan	80	100	91	66	84	71	99
Zhanel [204]	2008	Canada	99	98,1%	95,2%	82,9%	68,6%	69,2%	-
Notre étude	2013	Algérie	0	100%	100%	0%	0%	0%	100%

Bulkhoderia cepacia

Shio-Shin [202]	2009	Taiwan	3%	58%	3%	60%	95	83	20
Notre étude	2013	Algérie	100%	100	0	0	100	100	0

CAZ : ceftazidime, IMP : imipénème, TZP : tazobactam pipéracilline, CIP : ciprofloxacine, GN : gentamycine, AN : amikacine, ATM : aztréonam.

Résistance aux antibiotiques de *Morganella morganii* et *Serratia marcescens*:

Vu le nombre de souches isolées dans notre étude, 3 *Morganella morganii*, 2 *Serratia marcescens*, 2 *Raoultella ornithinolytica*, 1 *Providencia stuarti*, il est difficile de faire des comparaisons ou de porter des conclusions sur le niveau de résistance des ces entérobactéries isolées des IN en réanimation, néanmoins, l'étude de la sensibilité a montré une résistance de toutes ces souches aux C3G testées par production d'une BLSE (100%), ceci confirme la tendance enregistrée chez les entérobactéries identifiées dans notre étude, avec des niveaux de résistance très élevés aux C3G par production de BLSE pouvant atteindre les 100%.

Ces souches résistent non seulement aux β -lactamines, mais aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. Cependant elles sont toutes sensibles aux carbapénèmes et à l'association tazobactam pipéracilline, exception faite pour *Raoultella ornithinolytica* qui résiste à cet antibiotique.

Dans la littérature, les auteurs rapportent des niveaux de résistance plus bas aux différentes familles d'antibiotiques, avec des taux de résistance à la ceftazidime pouvant atteindre 14% pour *Serratia marcescens*[207], et 17% pour *Morganella morganii*.

La résistance aux aminosides et aux fluoroquinolones est faible avec 6,6% de résistance à la gentamycine et 12% à la ciprofloxacine pour *Serratia marcescens*, alors que pour *Morganella morganii* les taux de résistance sont de 7% à la gentamycine et 20 % à la ciprofloxacine.

La multi-résistance enregistrée dans notre étude notamment pour les entérobactéries est très élevée voir alarmante, elle pose un problème de prise en charge thérapeutique et de prescription d'antibiotique, cependant ces souches ont montré une sensibilité à l'association tazobactam pipéracilline pouvant constituer une alternative thérapeutique aux infections par entérobactéries productrices de BLSE, car l'usage des carbapénèmes n'est pas sans conséquences avec la publication de plusieurs rapports faisant état de l'émergence des souches résistantes aux carbapénèmes en Algérie.

Tableau 71 : résistance de *Morganella morganii* et *Serratia marcescens*

Auteur [réf]	Lieu	Année	CAZ	CTX	CRO	TZP	CIP	IMP	GN	AN
<u>Serratia marcescens</u>										
Zhanel [207]	2008	Canada	NT	-	1	3	10	2	2	0
Jones [207]	2004	USA	7,9	-	4,6	5,1	6,7	0	5,9	-
Jones [207]	2004	Canda	3	-	1,7	3,3	11,7	0	5,2	-
Jones [207]	2004	Italie	13,3	-	6,3	3,8	4,5	0	2,1	-
Jones [207]	2004	Allemagne	7,5	-	0	3,1	12,4	0	6,3	-
Jones [207]	2004	France	3	-	4,3	2,4	10,5	0	6,6	-
Notre étude	2013	Algérie	100	100	100	0	50	0	100	50
<u>Morganella morganii</u>										
Jones [207]	2004	USA	17,3	8,4	2,2	5,1	20,7	0	7,7	NT
Jones [207]	2004	Canda	10,9	3,8	1,4	1,6	4,5	0	7,2	NT
Jones [207]	2004	Italie	15	6,3	3,2	3,3	9,5	0	37,2	NT
Jones [207]	2004	Allemagne	7,7	3,9	0	3,5	2	0	5,9	NT
Jones [207]	2004	France	8	5,9	5,3	4,6	8,5	0	7,9	NT
Notre étude	2013	Algérie	100	100	100	0	100	0	100	100

CAZ: ceftazidime, CTX: cefotaxime, CRO: ceftriaxone, TZP: piperacilline tazobactam, CIP: ciprofloxacine, IMP: imipénème, GN: gentamicine, AN: amikacine,

Conséquences des infections nosocomiales en réanimation :

Durée de séjour :

Les infections nosocomiales sont responsables de l'allongement de la durée de séjour en réanimation. Dans notre série, nous avons comparé la moyenne de durée de séjour entre patients infectés et patients non infectés, elle est allongée de 19 jours chez les patients ayant acquis une infection nosocomiale par rapport aux patients non infectés. Madani rapporte dans son étude que la durée de séjour est allongée de 10,6 jours dans le cas des PAVM, 13,7 jours pour les patients avec IUN, et 9 jours en cas de BLC [24].

La mortalité :

La mortalité chez les patients infectés est très élevée dans notre étude 67 % (101 décès) contre 37.5 % chez les patients non infectés. Dans la littérature, la mortalité attribuable aux infections nosocomiales est variable, allant de 10.8 % à 45.8 % [231, 232]. Il est difficile d'attribuer la mortalité à l'infection nosocomiale seule car elle dépend également de la pathologie initiale sous jacente et de l'état de gravité à l'admission en réanimation, ce qui est confirmé dans notre étude, avec un IGSII (45 vs 38) plus élevé chez les patients infectés par rapport aux patients non infectés.

Dans notre étude, le niveau élevé de la résistance bactérienne pourrait expliquer au moins en partie cette surmortalité du fait de difficultés de traitement.

Consommation des antibiotiques :

Dans notre étude, les C3G sont les antibiotiques les plus utilisés en réanimation avec 307 DDJ/1000 jours, ceci est conforme aux données rapportés par Madani au Maroc [24], les C3G sont les antibiotiques les plus utilisés avec 215.54 DDJ/1000 jours, par contre pour le réseau algérien de la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques, les C1G sont les antibiotiques les plus utilisés avec 205,2 DDJ/1000 jours pour les C1G, et 168,5 DDJ/1000 jours.

Dans notre étude, le suivi de la consommation des antibiotiques sur les trois années montre une baisse de la consommation de tous les antibiotiques utilisés.

Typage moléculaire des souches bactériennes :

1- Les entérobactéries :

Identification géotypique des BLSE :

43 souches d'entérobactéries ont bénéficiés d'une caractérisation moléculaire de BLSE par PCR puis par séquençage.

Les résultats du séquençage montrent une **prédominance de la production de CTX-M-15**, 40 souches (sur 43 soit 93%), suivi des **TEM-1** produites chez 34 souches (sur 43 soit 79 %) et de SHV chez 24 souches (sur 43 soit 55,8%), plusieurs variant de BLSE de type SHV ont été identifiées dans notre étude.

Les BLSE de type SHV identifiées au cours de notre étude sont : **SHV-11** (12 souches 50%), **SHV-1** (5 souches 20,83 %), **SHV-28** (4 souches 16,66 %), **SHV-12** (2 souches *E.coli* 8,33 %), et une nouvelle BLSE de type **SHV-60**, cette BLSE a été rapporté au Portugal en 2009 [233].

Nous rapportons également la caractérisation pour la première fois en Algérie de *Raoultella ornithinolytica* BLSE+ à partir de prélèvements de patients à visée diagnostique, les deux souches arboraient les gènes **CTX-M-15** et **TEM-1**, et isolées de PAVM. Cette bactérie a été décrite pour la première en 1989 par Kosako Y et al [234]. Il y a plusieurs rapports de cas d'infection humaine par *R.ornithinolytica* dans la littérature [235, 236, 237]

Ces plasmides sont aisément transmissibles au sein et entre les espèces bactériennes. Les BLSE se produisent surtout chez les espèces *Klebsiella* et *Escherichia coli*, mais peuvent également être présents chez d'autres espèces d'entérobactéries [238].

Klebsiella pneumoniae BLSE+ est un pathogène à fort potentiel épidémique, elle est fréquemment impliquée dans les infections sévères et les épidémies nosocomiales notamment dans les unités de réanimations. Ceci concorde avec nos résultats, sur les 24 souches séquencées, 23 ont exprimé CTX-M-15, 20 souches TEM-1 et 20 souches des BLSE de type SHV.

Dans les années 1990, seules les BLSE de type SHV et TEM ont été identifiées, et ce n'est qu'au début des années 2000 que les BLSE de type CTX-M ont été identifiées chez *E coli*, actuellement elles sont les plus fréquentes. La dissémination de ces enzymes et en particulier

du variant CTX-M 15 concerne l'ensemble des entérobactéries, et tous les continents, elles semblent avoir une capacité de dissémination particulière [239], cette distribution géographique est qualifiée par R. Canton de pandémie [240].

Dans notre pays, il apparaît clairement que les CTX-M ont diffusé, plusieurs études rapportent non seulement la diffusion des CTX-M-15, mais également de CTX-M-3 et CTX-M-28 [241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250].

Dans le monde, plusieurs études ont rapporté la diffusion de ce variant **CTX-M 15** dans les **services de réanimation**, en France [227,251] au Koweït [252], en Grèce [253], au Taiwan [254], en Tanzanie [255], en Lituanie [256], en Espagne [257] et au Canada [258].

Les BLSE de type CTX-M, et en particulier CTX-M15, sont maintenant décrites dans de nombreux pays d'Europe [259, 260, 261], d'Afrique [262, 263], d'Asie ou d'Amérique [264, 265, 266, 267, 268].

Des études ont rapporté que les facteurs de risque de portage de CTX-M à l'admission à l'hôpital sont le sexe féminin, l'antécédent de prise d'antibiotique, un traitement antibiotique en cours, une pathologie hépatique chronique et l'usage des antiulcéreux de type anti-H2 [269]. Le portage digestif communautaire est très fréquent y compris pour des personnes non soumises à des traitements antibiotiques [270]. Meunier D et al ont rapporté que les animaux d'élevage pouvaient être porteurs et la consommation de viande contaminée pourrait être un des facteurs de dissémination de ce type de résistance au niveau communautaire [271].

La résistance aux aminosides est fréquemment associée, de même que la résistance aux fluoroquinolones et au cotrimoxazole. L'arsenal thérapeutique vis-à-vis de ces souches est souvent restreint aux carbapénèmes, la colimycine et la tigécycline (non disponible en Algérie). La place des céphamycines est à préciser [272], de même que les associations C3G inhibiteurs de bêta-lactamase qui pourraient avoir leur place.

Résistance aux carbapénèmes des entérobactéries :

L'antibiogramme a montré une sensibilité de toutes les entérobactéries aux carbapénèmes testés (imipénème et ertapénème), avec des CMI < 1 mg/ml pour l'imipénème et < 0.5 mg/ml pour l'ertapénème. La recherche de la NDM-1 (new Delhi métallo-enzyme) par PCR est négative.

L'isolement de souches d'entérobactéries produisant une carbapénèmase est croissant dans le monde entier. Il s'agit essentiellement des bêta-lactamases de type KPC, des métallo-bêta-lactamases IMP/VIM et plus récemment de métallo bêta-lactamase NDM-1 et d'OXA-48.

K. pneumoniae reste l'espèce d'entérobactérie chez qui la plupart de ces carbapénèmases ont été identifiées [273, 274].

En Algérie, Robin F et al ont rapporté la résistance par métallo-enzyme de type VIM-19 chez 5 souches d'entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae*, *E.coli* et *Providencia stuartii*) isolées chez des patients hospitalisés en réanimation de l'hôpital militaire [12].

Le risque d'impasses thérapeutiques est réel, ce d'autant qu'il n'existe pas de perspectives proches de mise sur le marché de nouveaux antibiotiques anti-Gram négatifs et que de nouvelles carbapénèmases ont une activité hydrolytique encore plus étendue vis-à-vis des carbapénèmes.

Notre étude montr que la résistance des entérobactéries aux C3G est en rapport avec une dissémination des BLSE dans le service, elle est liée à de multiples enzymes trouvés dans différents espèces bactériennes. La présence **des même gènes BLSE de type TEM-1 et CTX-M-15 dans diverses souches non apparentées, suggère une possibilité de transfert horizontal de ces gènes dans le service réanimation** (voir même à l'hôpital). De même la dissémination clonale des bactéries résistantes est aussi un facteur potentiel de la résistance. Il est nécessaire de mettre en place une politique stricte de contrôle des infections à l'hôpital et une surveillance régulière de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

***Acinetobacterbaumannii* :**

Acinetobacter baumannii a émergé ces dernières années comme une cause majeure d'infections nosocomiales associées à une morbidité et une mortalité importantes [275, 276, 277]. Considéré comme un commensal de bas grade pathogénicité, c'est à dire un microorganisme opportuniste, *Acinetobacter* a été souvent ignoré dans les années 1970 lorsqu'il est isolée à partir d'échantillons cliniques [278, 279].

Cependant, *Acinetobacter* a connu un regain d'intérêt au cours des 20 dernières années, un fait attribué à l'expansion mondiale des unités de soins intensifs (USI) qui a conduit à un changement dans le type d'infections causées par *Acinetobacter*, et l'émergence de multi-

résistance des souches(MDR), dont certaines sont aujourd'hui pan-résistantes aux antibiotiques, à l'exception de la colistine [279]

Jusqu'à récemment, la plupart des isolats d'*A.baumannii* sont restés sensibles aux carbapénèmes, bien que la résistance à ces composés ait été signalée depuis le début des années quatre vingt dix, la résistance aux carbapénèmes chez cette espèce est de plus en plus observée dans le monde entier et constitue un événement sentinelle pour la résistance aux antimicrobiens émergents. La résistance aux Carbapénèmes d'*A.baumannii* est maintenant considérée comme un problème de santé important en raison des possibilités limitées de traitement antibiotique. Pour ces souches multi-résistantes, la colistine est souvent le traitement de dernier recours, mais la résistance des isolats cliniques à la colistine a déjà été signalée [280, 281].

Acinetobacter baumannii est une espèce qui dispose d'un arsenal enzymatique extrêmement vaste et divers pour contrecarrer l'action des antibiotiques [282, 283]. Cette espèce possède des mécanismes de résistance naturelle aux β -lactamines, correspondant principalement à la production d'une céphalosporinase chromosomique (β -lactamase de type AmpC). Ce mécanisme peut être hyperproduit lorsque la séquence d'insertion ISAbal apportant des séquences promotrices fortes est insérée en amont du gène codant cette AmpC [284]. Nous pourrions ainsi associer la résistance aux β -lactamines des souches isolées dans notre série (mis à part les carbapénèmes) à l'hyperproduction de cette enzyme chromosomique due à la présence de l'ISAbal puisque elles ont toutes montré ce profil.

Pour la résistance aux carbapénèmes, **le support moléculaire de la résistance aux carbapénèmes** dans cette étude est **gène blaOXA-23** (17 souches ont été testées sur 31 résistantes aux carbapénèmes). Il existe plusieurs rapports sur les épidémies à *Acinetobacter baumannii* multi-résistant dans les unités de soins intensifs et les patients des services de réanimation gravement malades sont toujours à risque plus élevé de développer des infections nosocomiales dues à des souches résistantes aux antibiotiques. La production de carbapénémase de type bla-OXA chez *A.baumannii* est de plus en plus répandue, avec des rapports en provenance d'Afrique, d'Europe, d'Asie, de la Chine et l'Amérique du Sud. Notre étude a révélé que **toutes les souches d'*Acinetobacter baumannii* abritent les gènes blaOXA-51- ISAbal associés à blaOXA-23.**

Le sous-groupe OXA-23 a d'abord été rapporté chez *A.baumannii* en Ecosse en 1995 et s'appelait à l'origine ARI-1, mais a été renommé OXA-23, *Acinetobacter baumannii* portant le gène bla OXA-23 a déjà été rapportée en Algérie en 2004, et au CHU Annaba en 2012 [285]

La dissémination de Bla-OXA 23 est mondiale, plusieurs études récentes rapportent ce gène comme un des supports moléculaire de la résistance de cette espèce aux carbapénèmes, en Tunisie [286, 287], en Egypte [288] en Espagne [289], en Iraq [290], au Brésil [291], au Nigéria [292], en Chine [293, 294, 295], au Sénégal [296], en Pologne [297], au Taiwan [298], en Iran [299], en Grèce [300], en Corée [301], en république tchèque [302], en Italie [303], et aux USA [304].

Ces résultats réaffirment la diffusion dans le monde entier des gènes carbapénémase de type bla-OXA dans les isolats cliniques d'*A.baumannii* MDR et de l'émergence et la diffusion rapide de la résistance aux carbapénèmes par production bla-OXA-23 gène en Algérie.

La lutte contre la dissémination de ces MDR passe par une bonne application des mesures de contrôle des infections et en particulier de «l'hygiène des mains», une meilleure gestion des antibiotiques afin de ralentir le développement de la résistance et de diminuer les taux de résistance élevés [305].

***Staphylococcus aureus* :**

Staphylococcus aureus est l'une des espèces bactériennes les plus couramment rencontrées au laboratoire de microbiologie médicale. Elle est à l'origine de nombreuses infections, dont certaines sont graves. Elle résiste aujourd'hui à de nombreux antibiotiques initialement actifs, comme les pénicillines G, par production de pénicillinase. Les souches hospitalières peuvent résister également aux pénicillines du groupe M (oxacilline) par modification des protéines liant la pénicilline (PLP). En effet, ces souches produisent une PLP2a, beaucoup moins affine pour les β -lactamines que les PLP habituelles. Cette PLP2a est codée par le gène *mecA* dont l'expression est sous la dépendance de gènes régulateurs. Cette méthicillino-résistance peut être d'expression homogène ou hétérogène.

De rares souches peuvent résister à la méticilline par d'autres mécanismes (hyperproduction de pénicillinase, enzyme hydrolysant spécifiquement la méticilline, modifications de PLP). La détection phénotypique de la méthicillino-résistance nécessite des méthodes particulières (antibiogramme sur milieu hypersalé ou incubé à 30 °C). Une détection moléculaire du gène

mecA par PCR permet de révéler cette résistance chez des souches mal détectées par les méthodes phénotypiques.

La fréquence des souches possédant le gène codant la PVL (PVL+) était de 10% (1 souche positive sur 10 souches MRSA testées pour ce gène), les souches MSSA n'ont pas bénéficié d'une recherche de ce gène (10 souches MSSA).

En Algérie la fréquence de la PVL est variable, plusieurs études ont rapportées la présence de la PVL pour les souches MRSA et MSSA, non seulement en milieu hospitalier mais également à partir d'infections communautaires. La présence de PVL s'échelonne de 12 % à 71 % [306, 307, 308, 309, 310, 311].

La prévalence des SARM PVL+ dans le monde est également variable, une prévalence très faible de l'ordre de 0% rapportée au Japon [312] et en Angleterre [313], faible au pays bas 15% [314], 28 % en Jordanie [315], par contre une très forte prévalence est rapportée en Grèce (49%) [316] et en Tunisie (92 %) [317]. Pour les auteurs, cette incidence élevée des SARM PVL+ est en rapport avec plusieurs facteurs, une diffusion épidémique d'un clone, un portage à l'admission [318], et la possibilité d'une transmission manu-portée par le personnel de santé [319].

Notons que pour ces mêmes souches (au nombre de 10), la recherche de la toxine du choc staphylococcique TSST-1 était négative. En Algérie, Antri K et col ont déjà rapporté la présence de la TSST-1 parmi des souches *Staphylococcus aureus* d'origine nosocomiale [310].

Certes, dans notre étude le *Staphylococcus aureus* ne représente que 10,9 % des isolats en réanimation, et que la recherche des toxines PVL et TSST-1 a montré une fréquence très faible avec 1 seule souche MRSA+PVL+ et aucune souche ne présente une TSST-1, par contre la résistance à la méthicilline est élevée, 61,5% des souches sont MRSA+. La surveillance de cette bactérie est primordiale car elle est considérée comme bactérie indicatrice référentielle de la résistance en milieu hospitalier (c'est un indicateur parmi les cinq indicateurs du tableau de bord des IN).

Recommandations :

La prise en charge des IN est multidisciplinaire, et toutes ces constatations nous interpellent et nous incitent à une réorganisation qui devrait favoriser la mise en place:

- **Un staff dédié aux problèmes infectieux** au minimum 1 fois par semaine, assisté d'un microbiologiste centré sur les résultats des examens microbiologiques, avec discussion et interprétation de ces résultats, réévaluation d'une antibiothérapie en cours, respect des modalités de prescription définies aupréalable.
- **La surveillance de la consommation** d'antibiotiques ciblés et de l'incidence des bactéries multi-résistantes en croisant le volume des antibiotiques.
- **La généralisation des nouvelles techniques de typage moléculaire**, indispensable pour la détection des mécanismes de la résistance pour pouvoir adapter la prévention et contenir la diffusion des gènes de résistance en milieu hospitalier.
- **La formation régulière des médecins, une évaluation des pratiques (EPP) de l'antibiothérapie dans le service ;** maîtrise de l'information avec régulation de la visite médicale et contrôles des informations des firmes pharmaceutiques.
- **Il est souhaitable de dépister le portage et d'établir la surveillance des infections par BMR au service de réanimation.** Compte tenu de la complexité du problème, il semble pertinent de mettre en place des équipes de gestion des antibiotiques et des spécialistes en maladies infectieuses qui travaillent conjointement avec le laboratoire et l'hygiène hospitalière afin d'aborder le problème dans une optique pluridisciplinaire.

L'hygiène des mains dans ces services à haut risque infectieux est primordial pour la prévention des IN, la mise en place des produits hydro-alcooliques est un outil pour lutter efficacement contre la transmission croisée dans ces secteurs de réanimation où la proximité des patients, le nombre de patients infectés et la fréquence des gestes invasifs font des services de réanimation des secteurs particulièrement à risque. Il faut aussi veiller au respect strict des précautions standard.

L'implémentation des SHA et l'éducation des professionnels de santé soutenue par des facteurs de renforcement comme la rétro-information des performances sur le terrain, le lien avec les taux d'infections permettent d'obtenir une consolidation des résultats dans le temps.

Conclusion :

Les infections nosocomiales représentent un problème de santé publique par le coût, la morbidité et la mortalité qu'elles engendrent, La surveillance active est une activité essentielle de la prévention des infections nosocomiales.

L'incidence des IN en réanimation est de 16,8 % soit 14,04 IN/1000 jours-patient, l'exposition aux dispositifs invasifs est très fréquente, 86% des patients sont porteurs de sondes, 57% sont ventilés et 16% ont bénéficié d'un cathétérisme veineux central.

Les **PAVM sont les IN les plus fréquentes** en réanimation, elles représentent **67% des IN** avec une densité d'incidence de **33.06 / 1000 jours de ventilation invasive**, elles sont liées à la ventilation mécanique dans tous les cas. Elles sont tardives survenant dans 72% des cas après 5 jours de ventilation mécanique.

Les BGN sont les germes les plus dominants dans 87 % des cas, avec respectivement *Klebsiella pneumoniae* (24%), *Acinetobacter baumannii* (20,6%) et *Pseudomonas aeruginosa* (19,2%).

La résistance aux antibiotiques des germes isolés est très inquiétante, avec une fréquence élevée des BMR à l'origine d'impasse thérapeutique. **75,6 % des entérobactéries résistent aux C3G avec un pourcentage élevé de production des BLSE, 56 % des *Acinetobacter baumannii*, 23,5 % des *Pseudomonas aeruginosa* résistent aux carbapénèmes, et 61% des *Staphylococcus aureus* sont résistants à l'oxacilline.**

Nous rapportons également la caractérisation pour la première fois en Algérie de *Raoultella ornithinolytica* **BLSE+** à partir de prélèvements de patients à visée diagnostique

Les conséquences des infections nosocomiales sont considérables, elles sont à l'origine d'un allongement de la durée de séjour de 19 jours avec un surcoût de **40781460,92 DA soit 26 % des dépenses** du service réanimation. Les infections nosocomiales sont responsables **d'une surmortalité avec 67 % de décès.**

L'étude moléculaire des souches, nous a permis la caractérisation des gènes de résistance des BGN aux antibiotiques, en effet :

- La résistance aux C3G des entérobactéries est en rapport avec la **production de BLSE**. Les techniques de séquençage nous ont permis de confirmer la **dissémination**

de CTX-M 15 comme support génétique de la résistance, 99 % des souches testées sont porteuses de ce gène, confirmant ainsi les données de la littérature qui rapportent une diffusion pandémique de ce gène. De plus, la plupart de ces **souches sont porteuses de TEM-1 et de SHV. Plusieurs variants de type SHV ont été identifiés dans notre étude, dont un nouveau variant SHV-60 décrit pour la première fois en Algérie.**

- **La production d'OXA-23 est le support génétique** de la résistance des *Acinetobacter baumannii* aux carbapénèmes au service de réanimation.

La résistance du Staphylococcus aureus à l'oxacilline est codée par le gène MecA, et 1 seule souche est MRSA+PVL+.

La prise en charge du problème des bactéries productrices de BLSE est un véritable défi du fait de l'augmentation de la diversité et de l'ubiquité des gènes codant ces enzymes chez les BGN de l'endémicité progressive de ces souches parmi les patients admis en réanimation. Le risque d'échec thérapeutique lié à ces infections peut conduire à une escalade thérapeutique sans issue. Les microbiologistes sont confrontés à l'émergence continue de nouvelles enzymes et à l'association de différentes enzymes et mécanismes de résistance dans le même organisme. Cette complexité rend leur détection plus difficile.

La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries fait partie des résistances émergentes aux antibiotiques d'importance clinique, auxquelles appartiennent également la multi-résistance du *P.aeruginosa* et *A.baumannii*. L'enjeu dans notre situation est important car la détection des souches résistantes aux carbapénèmes est très difficile avec les méthodes utilisées en routine au laboratoire, et l'identification de ces souches est primordiale pour pouvoir contenir leur émergence et diffusion en milieu hospitalier et en réanimation plus particulièrement.

BIBLIOGRAPHIE

- 1-Comite technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins.** Actualisation de la définition des infections nosocomiales. Ministère de la santé, de la jeunesse et des sports DGS/DHOS, CTINILS – Mai 2007.
- 2- Brun-Buisson C et le groupe de travail,** risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation : texte d'orientation SRLF/SFA. 2005. Réanimation 14(2005) 463-471.
- 3- SFAR, SRLF.** 5e Conférence de consensus Prévention des infections nosocomiales en réanimation (transmission croisée et nouveau-né exclus). Annales françaises d'anesthésie et de réanimation 28 (2010) 912-920.
- 4-Vincent JL.** Nosocomial infections in adult intensive-care units. Lancet 2003; 361: 2068-2077.
- 5- Fehlberg LC, Carvalho AM, Campana EH, Gontijo-Filho PP, Gales AC.** Emergence of Klebsiella pneumoniae-producing KPC-2 carbapenemase in Paraíba, Northeastern Brazil. Braz J Infect Dis. 2012 Nov; 16 (6):577-80.
- 6- Rolain JM, Parola P, Cornaglia G.** New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1): towards a new pandemic? Clin Microbiol Infect: 2010; 16: 1699–1701
- 7- Mulvey MR, Grant JM, Plewes K, Roscoe D, Boyd DA.** New Delhi metallo-beta-lactamase in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli, Canada. Emerg Infect Dis, 2011 ;17: 103–106.
- 8- Huang TD, Berhin C, Bogaerts P, Glupczynski Y.** Prevalence and mechanisms of resistance to carbapenems in Enterobacteriaceae isolates from 24 hospitals in Belgium. J Antimicrob Chemother. 2013 Apr 3
- 9- Cuzon G, Bonnin R, Nordmann P.** First Identification of Novel NDM Carbapenemase, NDM-7, in *Escherichia coli* in France.
- 10- Hornsey M, Phee L, Wareham DW.** A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo-β-lactamase in a multidrug-resistant *Escherichia coli* ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom. Antimicrob Agents Chemother (2011)55: 5952–5954.
- 11- Poirel L, Fortineau N, Nordmann P.** International transfer of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* from Iraq to France. Antimicrob Agents Chemother: 201155: 1821–1822.
- 12- Robin F, Aggoune-Khinache N, Delmas J, Naim M, Bonnet R.** Novel VIM metallo-beta-lactamase variant from clinical isolates of Enterobacteriaceae from Algeria. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54(1):466-70.
- 13- Ellenberg E.** Chronique de l'infection nosocomiale, les précurseurs. *Antibiotiques* 2005 ; 7 : 70-72.

- 14- Ellenberg E.** Chronique de l'infection nosocomiale (3e partie), Les hôpitaux et l'infection nosocomiale. *Antibiotiques* 2005 ; 7 : 197-199.
- 15- Benhabiles B, N.Nechad, MK Guerchani.** Communication orale, journée SAMIC société algérienne de Microbiologie 2010.
- 16- Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R. et al.** international study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Journal of the American medical association* 2009; 302 (21) 2323-2329.
- 17- Suetens C, Morales I, Savey A, Palomar M, Hiesmayr M, Lepape A, Gastmeier P, Schmit JC, Valentiliene R, Fabry J.** European surveillance of ICU-acquired infections (HELICS-ICU): methods and main results. *Journal of hospital infection* (2007) 65 (S2) 171-173.
- 18- Réseau REA-Raisin, France,** Résultats 2010. Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte. cclinparisnord.org/REACAT/REA2010/Rapport_REA2010annexe.pdf.
- 19- Leblebicioglu H, Rosenthal VD, Arikan OA, ozgultekin A, Yalcin AN, Koksali I, Usluer G et al.** Device associated hospital-acquired infection rates in Turkish intensive care units. Findings of the international Nosocomial infection control consortium (INICC). *Journal of hospital infection* (2007) 65; 251-257.
- 20- Lockhart RC, Abramson MA, Beekmann S, Gallagher G, Riedel S, Diekema DJ, Quinn JP, Doern VG.** Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli causing infections in the intensive care unit patients in the united states between 1993 and 2004. *Journal of clinical and microbiology* 2007; V 45 N° 10, 3352-3359.
- 21- Rosenthal VD, Gusman S, Orellano PW.** Nosocomial infections in medical-surgical intensive care units in argentina: attributable mortality and length of stay. *American journal of infection control* 2003, V5: 291-295.
- 22- Mehta A, Rosenthal VD, Mehta Y, Chakravarthy, Todi SK, Sen F, Gopinath R et al.** Device associated Nosocomial rates in the intensive care units of seven Indian cities. Findings of the international Nosocomial infection control consortium (INICC). *Journal of hospital infection* (2007) 67; 168-174.
- 23- Noava-ng J.A, Berda R, Arreza Y, Rosenthal VD, Villanueva V et al.** Device associated Nosocomial rates in adult, pediatric, and neonatal intensive care units of hospitals in Philippines. International Nosocomial infection control consortium (INICC). *Journal of hospital infection* (2011) 39; 548-554.
- 24- Madani N, Rosenthal VD, Dendane T, Abidi K, Zeggwagh AA, Abouqal R.** health care associated infections rates, length of stay, and bacterial resistance in an intensive care unit of morocco: Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). *International archives of medicine* 2009,2:29

- 25- El-Kholy A, Saied T, Gaber M, Youanan MA, Haleim MMA, El-Sayed H, El-Karaksy MA, Bazara'a H, Talaat M.** Device associated Nosocomial rates in the intensive care units at Cairo university hospitals: first step toward initiating surveillance programs in a resource-limited country. *American journal of infection control* (2012):e1-e5.
- 26- Rahal K et al.** Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 10^{ème} rapport d'évaluation. Réseau algérien de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques. www.sante.dz/aarn/documents/pdf/rapport10.pdf.
- 27- Lucet JL.** Quelle surveillance des infections nosocomiales en réanimation ? *Réanimation* (2008) 17, 267-274.
- 28-Garraffo R, Lavrut T.** Signification clinique des corrélations pharmacocinétique/pharmacodynamie des antibiotiques chez les patients de réanimation. *Réanimation* 14 (2005) 264–275
- 29- Breilh D.** Optimisation de l'antibiothérapie *Le Pharmacien Hospitalier et Clinicien* 2013;48:53-63
- 30- Allen S.** Prevention and control of infection in the ICU. *Current anesthesia and critical care* (2005)16; 191-199.
- 31-Girou E.** simplification des mesures d'hygiène dans la prévention des infections nosocomiales. *Réanimation* 15(2006) 193-197
- 32-Dombret MC;** Pneumopathies nosocomiales chez le patient non immunodéprimé. *EMC pneumologie 1* (2004) 69-86.
- 33- Dahyot C, Laksiri L, Mimoz O.** Pneumopathies nosocomiales. *Les essentiels* 2005, 527-532.
- 34- Alp E, Guven M, Yildiz O, Aygen B, Voss A, Dogonay M.** Incidence, risk factors and mortality of Nosocomial pneumonia in intensive care units: a prospective study. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* 2005; 3:17.
- 35-Vincent J-L.** Ventilator-associated pneumonia. *Journal of Hospital Infection* (2004) 57, 272–280.
- 36- Chevret S, Hemmer M, Carlet J, Langer M.** Incidence and risk factors of pneumonia acquired in intensive care units. Results from a multicenter prospective study on 996 patients. *European cooperative group on nosocomial pneumonia. Intensive Care Med* 1993; **19**:256-64.
- 37- Cavalcanti M, Valencia M, Torres A.** Respiratory nosocomial infections in the medical intensive care unit. *Microbes and infection* 7 (2005) 292-301.
- 38- Giard M, Lepape A, Allaouchiche B, Guerin C, Lehot J-J, Marc-Olivier Robert M-O et al.** Early- and late-onset ventilator-associated pneumonia acquired in the intensive care unit: comparison of risk factors. *Journal of Critical Care* (2008) 23, 27–3

- 39- Niederman MS.** The clinical diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Respire care* 2005; 50(6): 788-796.
- 40- Joseph P.** hospital-acquired pneumonia: risk factors, microbiology, and treatment. *Chest* 2001, 119; 373s-384s.
- 41- Torres A, Carlet J.** ventilator-associated pneumonia. European task force on ventilator-associated pneumonia. *European respi journal* 2001, 17:1034-1045.
- 42- Bastien O, Paulus S.** Infections graves à *Candida* en réanimation. *Le praticien en anesthésie-réanimation*, 2001, 5, 4.
- 43-Nseir S, Di Pompeo C, Soubrier S, Cavestri B, Jozefowicz E, Saulnier F, Durocher A.** Impact of Ventilator-Associated Pneumonia on Outcome in Patients With COPD. *Clinical Investigations in Critical Care* 2005; 128:1650–1656
- 44- Dupont H, Mentec H, Sollet JP, Bleichner G.** Impact of appropriateness of initial antibiotic therapy on the outcome of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2001; 27:355–362.
- 45- Donati S.Y., Papazian L.** Pneumopathies nosocomiales acquises sous ventilation mécanique. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Anesthésie-Réanimation, 36-984-A-16, 2008.
- 46-Crnich CJ, Safdar N, Maki DG.** The role of the intensive care unit environment in the pathogenesis and prevention of ventilator associated pneumonia. *Respir Care* 2005;**50**:813-36
- 47- American thoracic society and the infectious diseases society.** Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *American journal respiratory, critical care medicine* 2005; 171, 388-416.
- 48- Trouillet JL.** Ventilator associated pneumonia. *Hospital practice* 2012 ;V40 .
- 49- Fangio P, Rouquette-Vincenti I, Rousseau JM, Soullie B, Brinquin L.** diagnostic non invasif des pneumopathies nosocomiales acquises sous ventilation mécanique : comparaison entre prélèvement distal protégé et l'aspiration endotrachéale. *Annales françaises anesthésie et réanimation* 2002 ; 21 : 184-92.
- 50- Denis F, Ploy MF et al.** *Bactériologie médicale; techniques usuelles. Référentiel en Microbiologie médicale (REMIC)*. Masson; 1998.
- 51- Montravers P, Dupont H.** monitoring d'une antibiothérapie. SFAR Conférences d'actualisation 1996. 651-68
- 52- Wimberley N, Faling LJ, Bartlett JG.** A fiberoptic bronchoscopy technique to obtain uncontaminated lower airway secretions for bacterial culture. *Am Rev Respir Dis* 1979; **119**:337–343.
- 53- Meduri GU, Chastre J.** The standardization of bronchoscopic techniques for ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1992;**102**(5suppl1):557S–564S.

- 54- Jospeh NM, Sistla S, Dutta TK, Badhe AS, Parija SC.** Ventilator-associated pneumonia: a review. *European journal of international medicine* 21 (2010) 360-368..
- 55-Chaara M, Mateo J.** les pneumopathies aiguës communautaires graves. *Médecine d'urgence* 2000, 19-35.
- 56- Venet C, Tardy B, Zéni F.** Marqueurs biologiques de l'infection en réanimation chez l'adulte : place de la procalcitonine. *Réanimation* 2002 ; 11 : 156-71.
- 57- Girault CH.** Pneumopathies nosocomiales. *Revue maladies respiratoires* 2005 ; 22 : 6S59-61.
- 58- Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene MC, Faure G, Bollaert PE.** Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N Engl J Med* 2004; **350**:451-8.
- 59-Nys M, Ledoux D, Canivet JL, De Mol P, Lamy M, Damas P.** Correlation between endotoxin level and bacterial count in bronchoalveolar lavage fluid of ventilated patients. *Crit Care Med.* 2000 Aug; 28(8):2825-30.
- 60- Daubin C, Vincent S, Vabret A, Parienti JJ, Ramakers M, Freymuth F, Charbonneau P.** Nosocomial viral ventilator-associated pneumonia in the intensive care unit: a prospective cohort study. *Intensive care medical* (2005) 31: 1116-1122.
- 61- Bonten JM.** Ventilator-associated pneumonia: preventing the inevitable. *Healthcare epidemiology Clinical Infectious Diseases* 2011;52; 115-121.
- 62- Fagon JY, Ract C, Novara A.** prévention des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique. *Réanimation* 2001 ; 10 : 61-70.
- 63- Craven DE.** Preventing ventilator-associated pneumonia in adults: sowing seeds of change. *Chest* 2006;130;251-260
- 64- Alp E, Voss A.** ventilator associated pneumonia and infection control. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* 2006; 5:7
- 65- Richard MJ, JR Edwards, DH Culver, RP Gaynes.** Nosocomial infections in medical intensive care unit in the United States. National nosocomial infections surveillance system. *Crit Care Med* 1999; 27(5): 887-92.
- 66- Spencer RC,** predominant pathogens found in the European prevalence of infection in intensive care study. *EUR J Clin Microbiology Infect Dis* 1996; 15:281-5.
- 67-Lepape A, C.Arigh.** Infection urinaires nosocomiales en réanimation: moyens de prévention et mise en application.
- 68- Pavese P ;** infections urinaires nosocomiales: définition, diagnostic, physiopathologie, prévention, traitement. *Médecine et maladies infectieuses* 33(2003)266s-274s.

- 69- Léone M, Arnaud S, Boisson C, Blanc-Bimar MC, Martin C.** infections urinaires nosocomiales sur sonde en réanimation : physiopathologie, épidémiologie et prophylaxie. *Ann fr anesth réanim* 2000 ; 1 :23-34.
- 70-Caron F.** Physiopathology of nosocomial urinary tract infections. *Médecine et maladies infectieuses* 33 (2003) 438-446.
- 71- Maki DG, Tambyah PA.** Engineering out the risk of infection urinary catheters. *Emerging infectious diseases* 2000; 7: 1-6.
- 72- Tissot E, Limat S, Cornette C, Capellier G.** Risk factors for catheter-associated bacteriuria in a medical intensive care unit. *European journal of Clinical Microbiology and infectious Diseases.* 2001 ; 20(4) : 260-262.
- 73- Deprele C, Mahul P, Auboyer C, Dechavanne F, Martin P, Jospe R, at al.** Surveillance des infections urinaires en réanimation: critères de qualité des mesures de prévention? Rôle de la pression antibiotique. *Annales français d'anesthésie réanimation* 1999 ; 18 :411.
- 74- Bouza E, San Juan R, Voss A, Kluytmans J.** European perspective on Nosocomial urinary tract infection, II report on report on incidence, clinical characteristics and outcomes (ESGNI-004). *Clin Microbiol Infect Disease* 2001; 7:532-542.
- 75- Cavallo JD, E Garrabe.** Outils diagnostic biologique des infections urinaires nosocomiales (IUN) : analyse critique ; *médecine et maladies infectieuses* 33 (2003) 447-456.
- 76- Auboyer C.** urinary tract infection in intensive care units: diagnosis and treatment. *Médecine et maladies infectieuses* 33 (2003) 474-482.
- 77- Riegel P,** Aspects bactériologiques des infections urinaires nosocomiales. *Médecine et maladies infectieuses* 33 (2003) 255s-265s.
- 78- Courcol R, Marmonier A, Piemont Y.** Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto-bactériologique des urines. *Revue Française des Laboratoires* 2005, N° 370 :21-25.
- 79- Lavigne JP, Sotto A.** Candiduria. *Progrès en Urologie* 2005;15:213–6.
- 80- Lundstrom T. Sobel J.** Nosocomial candiduria : a review. *Clin infec Disease.*2001;32: 1602-1607.
- 81- Bastien O, Paulus P.** Infections graves à Candida en réanimation. *Le praticien en anesthésie-réanimation*, 2001, 5, 4.
- 82- Timsit JF, Minet C, Lugosi M, Calvino-Gunther S, Ara-Somohano C, Bonadona A, Hamidfar-Roy R, Daniel A, Schwebel C.** Prévention des infections de cathéters en réanimation. *Journal des anti-infectieux* (2011) 13,161-169.
- 83- Merrer J.** Epidémiologie des infections liées aux cathéters en réanimation. *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation* 2005 ; 24 :278-281.

- 84- **Zingg W, Cartier-Fassler V, Walder B.** Central venous catheter-associated infections. Best practice and research clinical anaesthesiology 2008; 22 (3):407-421
- 85- **Timsit JF.** Réactualisation de la douzième conférence de consensus de la société de réanimation de langue française (SRLF) : infections liées aux cathéters veineux centraux en réanimation. Réanimation 12 (2003): 258-265.
- 86- **Espinasse F, Page B, Cottard-Boulle B.** risque infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. Revue francophone des laboratoires 2010 ; 426 :51-63.
- 87- **Mimoz O, Rayeh F, Debaene B.** Infections liées aux cathéters veineux en réanimation: physiopathologie, diagnostic, traitement et prévention. Annales françaises d'anesthésie réanimation 2001 ; 20 :520-536.
- 88- **Garnier F, Denis F.** Bactériologie médicale, techniques usuelles. Masson 2007 ; 107-116.
- 89- **Gouin F, Velly L, Kerbaul F.** infections liées aux cathéters veineux : critères de décision de traitement. Annales françaises d'anesthésie et de réanimation 24 (2005) 302-305.
- 90- **Pottecher T, Gauzit R.** Faut-il des changements de cathéters sur guide ? Annales françaises d'anesthésie et de réanimation 24 (2005) 294-297.
91. **Roussel M-Delvallez.** Bactéries multirésistantes :Doit-on rester optimiste ?Feuillets de biologie.2001 ;42 :9-11.
92. **Arlet G, Philippon A.** Les nouvelles β -lactamases à l'aube du troisième millénaire Rev. Fr. Lab. 2003 ; 352 : 41-55.
93. **Philippon A., Arlet G.** Bêta-lactamases des bacilles à Gram-négatif : le mouvement perpétuel. Ann. Biol. Clin. 2005 ; 64 : 37-51.
94. **Philippon A.** Résistance bactérienne : définition, mécanismes, évolution. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris) Maladies infectieuses 8-006-N-10,2008.
95. **Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA.** A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother. 1995 ; 39(6):1211-33.
96. **Cattoir .V.** Les nouvelles bêtalactamases à spectre élargi. Pathologie infectieuse en réanimation. 2008 ; 204-208.
97. **Deshpande P, Rodrigues C, Shetty A, Kapadia F, Hedge A, Soman R.** New Delhi Metallo-beta lactamase (NDM-1) in Enterobacteriaceae: treatment options with carbapenems compromised. *J Assoc Physicians India.* 2010; 58:147-9.
98. **Rodriguez-Villalobos H, Struelens M-J.** Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur.2006 ; 15 205-213.

- 99. Gniadkowski M.** Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect.* 2008 Jan;14 Suppl 1:11-32. Review. Erratum in: *Clin Microbiol Infect.* 2008 May;14 Suppl 5:21-4.
- 100. Dubouix A, N. Marty.** Détection des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu par biologie moléculaire : avantages, limites. *Antibiotiques.* 2004 ;(6) : 193-201.
- 101. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P.** Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev.* 2005 ; 18(2):306-25.
- 102. Poirel L, Le Thomas I, Naas T, Karim A, Nordmann P.** Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 ; 44(3):622-32.
- 103. W Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P.** Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003 Aug; 47(8):2385-92.
- 104. Queenan AM, Bush K.** Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:440-58.
- 105. Poirel L, Pitout JD, Nordmann P.** Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol* 2007;2:501-12.
- 106. Nordmann P, Cuzon G, Naas T.** The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis* 2009; 9:228-36.
- 107. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al.** Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-1 from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1151-61.
- 108. Walsh TR.** Clinically significant carbapenemases: an update. *Curr Opin Infect Dis* 2008;21:367-71.
- 109. ong D, Toleman MA, Giske CG, et al.** Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla (NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:5046-54.
- 110. Poirel L, Héritier C, Tolun V, et al.** Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:15-22.
- 111. Carrër A, Poirel L, Yilmaz M, et al.** Spread of OXA-48-encoding plasmid from Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:1369-73.
- 112. Bou G, Martinez-Beltran J.** Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44: 428-32.

- 113. Heritier C, Poirel L, Fournier PE, et al.** Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49: 4174-9.
- 114. Poirel L, Rodriguez-Martinez JM, Plesiat P, Nordmann P.** Naturally occurring Class A β -lactamases from the *Burkholderia cepacia* complex. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53: 876-82.
- 115. Sinha M, Srinivasa H, Macaden R.** Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in *Acinetobacter* species. *Indian J Med Res* 2007;126: 63-7.
- 116. Philippon A, Arlet G.** Beta-lactamases of Gram negative bacteria: never-ending clockwork. *Ann BiClin (Paris)* 2006;64: 37-51.
- 117. Bonnin RA, Nordmann P, Potron A, et al.** Carbapenem-hydrolyzing GES-type extended-spectrum beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55: 349-54.
- 118. Moubareck C, Bremont S, Conroy MC, Courvalin P, Lambert T.** GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53: 3579-81.
- 119. Potron A, Munoz-Price LS, Nordmann P, Cleary T, Poirel L.** Genetic features of CTX-M-15-producing *Acinetobacter baumannii* from Haiti. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55: 5946-8.
- 120. Shakil S, Khan AU.** Detection of CTX-M-15-producing and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains from urine from an Indian hospital. *J Chemother* 2010;22: 324-7.
- 121. Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM.** Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet Infect Dis* 2011;11: 381-93.
- 122. Jovcic B, Lepsanovic Z, Suljagic V, et al.** Emergence of NDM-1 metallo-beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Serbia. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55: 3929-31.
- 123. Chu YW, Afzal-Shah M, Houang ET, et al.** IMP-4, a novel metallo-beta-lactamase from nosocomial *Acinetobacter* spp. collected in Hong Kong between 1994 and 1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45: 710-4.
- 124. Wang H, Guo P, Sun H, et al.** Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51: 4022-8.
- 125. Yum JH, Yi K, Lee H, et al.** Molecular characterization of metallo-beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomospecies 3 from Korea: identification of two new integrons carrying the bla(VIM-2) gene cassettes. *J Antimicrob Chemother* 2002;49: 837-40.

- 126. Lee K, Yum JH, Yong D, et al.** Novel acquired metallo-beta-lactamase gene, bla(SIM-1), in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49: 4485-91.
- 127. Lee MF, Peng CF, Hsu HJ, Chen YH.** Molecular characterisation of the metallo-beta-lactamase genes in imipenem-resistant Gram-negative bacteria from a university hospital in southern Taiwan. *Int J Antimicrob Agents* 2008;32: 475-80.
- 128. Karthikeyan K, Thirunarayan MA, Krishnan P.** Coexistence of blaOXA-23 with blaNDM-1 and armA in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from India. *J Antimicrob Chemother* 2010;65: 2253-4
- 129. Rolain JM, Parola P, Cornaglia G.** New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1): towards a new pandemic? *Clin Microbiol Infect* 2010;16: 1699-701
- 130. Qi C, Malczynski M, Parker M, Scheetz MH.** Characterization of genetic diversity of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strains collected from 2004 to 2007. *J Clin Microbiol* 2008;46: 1106-9
- 131. Bakour S, Kempf M, Touati A, et al.** Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in two university hospitals in Algeria. *J Med Microbiol* 2012;61: 1341-3
- 132. Paton R, Miles RS, Hood J, et al.** ARI 1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* 1993;2: 81-7.
- 133. Kempf M, Rolain JM.** Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents* 2012;39: 105-14.
- 134. Poirel L, Marque S, Heritier C, et al.** OXA-58, a novel class D {beta}-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49: 202-8.
- 135. Coelho J, Woodford N, Afzal-Shah M, Livermore D.** Occurrence of OXA-58-like carbapenemases in *Acinetobacter* spp. collected over 10 years in three continents. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50: 756-8.
- 136. Merkier AK, Catalano M, Ramirez MS, et al.** Polyclonal spread of bla(OXA-23) and bla(OXA-58) in *Acinetobacter baumannii* isolates from Argentina. *J Infect Dev Ctries* 2008;2: 235-40
- 137. Peleg AY, Franklin C, Walters LJ, Bell JM, Spelman DW.** OXA-58 and IMP-4 carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases in an *Acinetobacter junii* blood culture isolate from Australia. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50: 399-400
- 138. Castanheira M, Wanger A, Kruzal M, Deshpande LM, Jones RN.** Emergence and clonal dissemination of OXA-24- and OXA-58-producing *Acinetobacter baumannii* strains in Houston, Texas: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *J Clin Microbiol* 2008;46: 3179-80

- 139. Turton JF, Ward ME, Woodford N, et al.** The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett* 2006;258: 72-7
- 140. Mussi MA, Limansky AS, Viale AM.** Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of beta-barrel outer membrane proteins. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49: 1432-40.
- 141. Catel-Ferreira M, Coadou G, Molle V, et al.** Structure-function relationships of CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2011;66: 2053-6.
- 142. Fernandez-Cuenca F, Martinez-Martinez L, Conejo MC, et al.** Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2003;51: 565-74.
- 143. Bakour S, Kempf M, Touati A, et al.** Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in two university hospitals in Algeria. *J Med Microbiol* 2012;61: 1341-3
- 144. Barclay ML, Begg EJ, Chambers ST, et al.** Adaptive resistance to tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* 1996;37:
- 145. Bergmans DC, Bonten MJ, van Tiel FH, et al.** Cross-colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* of patients in an intensive care unit. *Thorax* 1998;53: 1053-8
- 146. Bert F, Branger C, Lambert-Zechovsky N.** Identification of PSE and OXA beta-lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* using PCR-restriction fragment length polymorphism. *J Antimicrob Chemother* 2002;50: 11-8.
- 147. Bert F, Lambert-Zechovsky N.** Comparative distribution of resistance patterns and serotypes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from intensive care units and other wards. *J Antimicrob Chemother* 1996;37: 809-13 .
- 148. Blanc DS, Nahimana I, Petignat C, et al.** Faucets as a reservoir of endemic *Pseudomonas aeruginosa* colonization/infections in intensive care units. *Intensive Care Med* 2004;30: 1964-8
- 149. Blanc DS, Petignat C, Janin B, Bille J, Francioli P.** Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: a prospective epidemiologic study. *Clin Microbiol Infect* 1998;4: 242-7
- 150. Bou G, Martinez-Beltran J.** Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44: 428-32.
- 151. Berthelot P, Grattard F, Mahul P, et al.** Prospective study of nosocomial colonization and infection due to *Pseudomonas aeruginosa* in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med* 2001;27: 503-12

152. **Bonnin RA, Nordmann P, Potron A, et al.** Carbapenem-hydrolyzing GES-type extended-spectrum beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55: 349-54
153. **Chanawong A, M'Zali FH, Heritage J, Lulitanond A, Hawkey PM.** SHV-12, SHV-5, SHV-2a and VEB-1 extended-spectrum beta-lactamases in Gram-negative bacteria isolated in a university hospital in Thailand. *J Antimicrob Chemother* 2001;48: 839-52
154. **Mainardi JL.** Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. EMC. 1998-006-N-10.
155. **Nordmann P, H. Mammeri.** Résistance plasmidique aux quinolones. *Antibiotiques*. 2007 ; 9 : 246-253.
156. **Biron M, Berche P, Ferroni A.** L'apport du laboratoire dans l'étude épidémiologique des infections bactériennes. *Pathol Biol* 2001 ; 49 : 128-37.
157. **Barbut F.** évaluation des marqueurs épidémiologiques en microbiologie. *Biologie médicale* 2011 ; 1-6.
158. **Blanc D, Siegrist H.** Typage bactérien : méthodes et valeur épidémiologique. *Bulletin Swissnoso*, <http://www.swissnoso.ch/fr/bulletin/articles/article/typage-bacterien-methodes-et-valeur-epidemiologique>.
159. **Caron F.** L'antibiogramme : un quadruple outil pour le clinicien. *Journal des Anti-Infectieux* 2012 ; Volume 14, numéro 4 : 168-174.
160. **Foulongne V, Michaux-Charachon S, Jumas-Bilak E, O'Callaghan D, Ramuz M.** Stratégies pour la recherche de gènes de virulence chez les bactéries pathogènes. *Pathologie Biologie* 52 (2004) 104–114.
161. **Lamoril J, M. Bogard, N. Ameziane, Deybach JC, Bouizegarène P.** Biologie moléculaire et microbiologie clinique en 2007. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 22 (2007) 5–18.
162. **Gravet A, Camdessouens-Miehe G, Gessier M, Peluso A, Vogelsperger-Fuchs B, Lohmann C, Schmitt F, Delarbre JM.** Bilan de l'utilisation en routine de la spectrométrie de masse dans un laboratoire hospitalier de microbiologie. *Pathologie Biologie* 59 (2011) 19–25.
163. **Gravet A, Camdessouens-Miehe G.** Application de la spectrométrie de masse à la microbiologie. *Revue francophone des laboratoires* ; 2011 : Vol 41 - N° 437
164. **Courcol R.** Quelles utilisations de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF en microbiologie médicale ? *Revue francophones des laboratoires* ; 2009 :62-65.
165. **Martinya D, O. Vandenberg O.** Exploitation de la spectrométrie de masse en microbiologie : une révolution. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* (2012) xxx, xxx—xxx.

165. **Barba R EJ, Rosenthal VD, Higuera F, Oropeza MS, Hernandez HT, Lopez MS, Lona EL, Duarte P, Ruiz J, Hernandez RR, Chavez A, Cerrato IP, Ramirez Ramirez GE, and Safdar N.** Device-associated nosocomial infection rates in intensive care units in four Mexican public hospitals. *American Journal Infect Control* 2006; 34:244-7.
166. **Kanj SS, Kanafani ZA, Sidani N, Alamuddin L, Zahreddine N, Rosenthal VD .** International Nosocomial Infection Control Consortium Findings of Device-Associated Infections Rate in an Intensive Care Unit of a Lebanese. University Hospital. *J Glob Infect Dis.* 2012 Jan-Mar; 4(1): 15–21.
167. **Cuellar LE, Fernandez-Maldonado E, Rosenthal VD, Castaneda-Sabogal A, Rosa Rosales, Manuel J. Mayorga-Espichan, Luis A. Camacho-Cosavalente, Luis I. Castillo-Bravo.** Device-associated infection rates and mortality in intensive care units of Peruvian hospitals: findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium. *Pan American Journal Public Health* 24(1), 2008.
168. **Tao L, B Hub, Rosenthal VD, Xiaodong Gao, Lixian He.** Device-associated infection rates in 398 intensive care units in Shanghai, China: International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) findings. *International Journal of Infectious Diseases* 15 (2011) e774–e780.
169. **Salomao R, V D. Rosenthal, Grimberg G, Simone Nouer, Sergio Blecher, Silvia Buchner-Ferreira, Rosa Vianna, and Maria Ângela Maretti-da-Silva.** Device-associated infection rates in intensive care units of Brazilian hospitals: findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health* 24(3), 2008.
170. **Guanche-Garcell H, O. Requejo-Pino, V.D. Rosenthal, C. Morales-Perez, O. Delgado-Gonzalez, D. Fernandez-Gonzalez.** Device-associated infection rates in adult intensive care units of Cuban university hospitals: International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) findings. *International Journal of Infectious Diseases* 15 (2011) e357–e362.
171. **Moreno CA, Rosenthal.VD, Olarte N, Gomez VW, Sussmann O, Agudelo JG and al .** Device-Associated Infection Rate and Mortality in Intensive Care Units of 9 Colombian Hospitals: Findings of the International Nosocomial Infection Control Consort. *Infection control and hospital epidemiology* 2006, vol. 27, no. 4:349-356.
172. **Rosenthal VD, Maki D, Alvarez-Moreno C, Mehta Y, Higuera F, Cuellar EC, Arikan OA, Abouqal R, Leblebicioglu H.** device associated Nosocomial infections in 55 intensive care units of 8 developing countries. *Annals of internal medicine* 2006 (145); 8:582-592.
173. **Al. Aly NY, Haifaa H. Al-Mousa, El Sayed M. Al Asar.** Nosocomial Infections in a Medical-Surgical Intensive Care Unit. *Med Principles Practice* 2008;17:373–377.
174. **Kübler A, W Duszynska, V D Rosenthal, M Fleischer, T Kaiser, E Szewczyk, B Barteczko-Grajek.** Device-associated infection rates and extra length of stay in an intensive care unit of a university hospital in Wroclaw, Poland: International Nosocomial Infection Control Consortium's (INICC) findings. *Journal of Critical Care* (2012) 27, 105.e5–105.e10.

175. **Ji-Guang D, Qing-Feng S, Ke-Cheng L, Ming-Hua Z, Xiao-Hui M, Wu N, Liang H, Jin-Xian Y, Zhan-Wei R, Rui-Wei Z, Hai-Jiao Z and Wen-Fei H.** Retrospective analysis of nosocomial infections in the intensive care unit of a tertiary hospital in China during 2003 and 2007. *BMC Infectious Diseases* 2009, 9:115.
176. **Hassanzadeh P, Motamedifar M, Hadi N.** prevalent bacterial infections in intensive care units of Chiraz university of medical sciences teaching hospitals, Shiraz, Iran. *Jpn journal infect Diseases* 2009; 62: 249-253.
177. **Dogru A, Sargin F, Celik M, Sagiroglu AE, Goksel MM, Sayhan H.** the rate of device-associated infections in a medical-surgical intensive care unit of a training and research hospital in Turkey: one-year outcomes. *Jpn Journal infect diseases* 2010; 63:95-98.
178. **Rosenthal.VD, Bijie.H, Maki. DG, Mehta.Y, Apisarnthanarak.A, Medeiros.EA, Leblebicioglu.H.** International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 36 countries, for 2004-2009. *American Journal of Infection Control* 40 (2012) 396-407.
179. **Kwak.YG, Lee. SO, Kim.HY, Kim.YK, Park. ES, Jin HY, H.J.Choi, S.Y.Jeong, E.S. Kim, H.K.Ki, S.R.Kim, J.Y.Lee, H.K.Hong, S.Kim, Y.S.Lee, H.-B.Oh, J.M.Kim.** Risk factors for device-associated infection related to organisational characteristics of intensive care units: findings from the Korean Nosocomial Infections Surveillance System. *Journal of Hospital Infection* 75 (2010) 195–199.
180. **De-olivera AC, Kovner CT, Da Silva RS.** Nosocomial infection in an intensive care unit in a Brazilian university hospital. *Revue Latino-américaine-Enfermagem* 2010; 18 (2):233-239.
181. **Valles J, Limonb E, Diazc E, I Fernandezd, M Palomare, F Barcenillaf, F Alvarez-Lermag and M Pujol.** Device-associated infection rates in Adult Intensive Care Units in Catalonia: VINCat Program findings. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012; 30: 33-38.
182. **Edwards JR, Peterson KD, Mu Y, Banerjee S, Allen-Bridson K, Morrell G, et al.** National Healthcare Safety Network (NHSN) report: data summary for 2006 through 2008, issued December 2009. *Am J Infect Control* 2009;37:783–805.
183. **Erbay H, Yalcin AN, Serin S, Turgut H, Tomatir E, Cetin B, Zencir M.** Nosocomial infections in intensive care unit in Turkish university hospital: a 2-year survey. *Intensive care med* (2003) 29:1482-1488.
184. **Rosenthal VD, Guzman S, Crnich C.** Device-associated nosocomial infection rates in intensive care units of Argentina. *infection control and hospital epidemiology* 2004. 25 : 251-255.
185. **Eggimann P, D. Pittet.** Candidoses en réanimation. *Réanimation* 2002 ; 11 : 209-21.
186. **Sobel JD.** Practice guidelines for the treatment of fungal infections. For the mycoses Study Group. *infectious diseases society of America. Clin Infect Dis* 2000;30:652.

- 187. Alvarez-Lerma F, Nolla-Salas J, Leon C, Palomar M, Jorda R, Carrasco N, et al.** Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. *Intensive Care Med* 2003; 29:1069–76.
- 188. Sellami A, H. Sellami, F. Makni, M. Bahloul, F. Cheikh-Rouhou, M. Bouaziz, A. Ayadi.** Candiduria in intensive care unit: significance and value of yeast numeration in urine. *Annales Françaises d’Anesthésie et de Réanimation* 25 (2006) 584–588.
- 189. Nassoura Z, Ivatury RR, Simon RJ, Jabbour N, Stahl WM.** Candiduria as an early marker of disseminated infection in critically ill surgical patients: the role of fluconazole therapy. *J Trauma* 1993;35:290–4.
- 190. Kauffman CA, Vazquez JA, Sobel JD, Gallis HA, McKinsey DS, Karchmer AW, et al.** Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. The National Institute for Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Mycoses Study Group. *Clin Infect Dis* 2000 ; 30 : 14-8.
- 191. Chabasse D.** Intérêt de la numération des levures dans les urines. Revue de la littérature et résultats préliminaires d’une enquête multicentrique réalisée dans 15 centres hospitaliers universitaires. *Ann Fr Anesth Réanim* 2001 ; 20 : 400-6.
- 192. Hassoune S, Nani S, Ouhadou M, Aalloula O, Benbachir M, Maaroufi A.** incidence des bactériémies nosocomiales dans les services à haut risqué du centre hospitalier universitaire de Casablanca (Maroc). *Pratiques et organisation des soins*, volume 43 N°1 : 2012.
- 193. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP.** Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infection control and hospital epidemiology* 000; 21:510-515.
- 194. Nseir S, F. Ader, C.-H. Marquette, A. Durocher.** Impact of fluoroquinolone use on multidrug-resistant bacteria emergence. *Pathologie Biologie* 53 (2005) 470–475.
- 195. Kollef MH.** Antimicrobial utilization strategies aimed at preventing the emergence of bacterial resistance in the intensive care unit. *Crit Care* 2005
- 196. Gruson D, G. Hilbert, F. Vargas, R. Valentino, J.P. Cardinaud, G. Gbikpi-Benissan.** Impact des nouvelles stratégies d’utilisation des antibiotiques en réanimation. *Réanimation* 2002 ; 11: 200-8.
- 197. Shawn R. Lockhart, Murray A. Abramson, Susan E. Beekmann, Gale Gallagher, Stefan Riedel, Daniel J. Diekema, John P. Quinn, and Gary V. Doern.** Antimicrobial resistance among gram-negative bacilli causing infections in intensive care unit patients in the united states between 1993 and 2004. *Journal of clinical microbiology*. 2007, Vol. 45, No. 1 p. 3352–3359.
- 198. Okeke NI, Klugman KP, Bhutta ZA, Duse AG, Jenkins P, O’Brien T, Pablos-Mendez A, Laxminarayan R.** antimicrobial resistance in developping countries. Part II: strategies for containment. *Lancet* 2005(5); 568-580

199. **Bayram A, Balci I.** Patterns of antimicrobial resistance in a surgical intensive care unit of a university hospital in Turkey. *BMC Infectious Diseases* 2006, 6:155.
200. **Trautmann M, Philipp M, Lepper, and Mathias Haller.** Ecology of *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit and the evolving role of water outlets as a reservoir of the organism. *Am J Infect Control* 2005; 33:S41-9.
201. **Oudhuis GJ, A. Verbon, J.A.A. Hoogkamp-Korstanje, E.E. Stobberingh .** Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* from Intensive Care Units in The Netherlands, 1998–2005. *International Journal of Antimicrobial Agents* 31 (2008) 58–63.
202. **Shio-Shin J, Po-Ren H, Wen-Sen L, Hou-Tai C, Ming-Yuan C, Ing-Shen C, Jen-Hsien W, Chen-Fu L, Jaiinn-Ming S, Wen-Chien K, Jiunn-Jong W, Yung-Ching L, Wen-Kuei H, Lee-Jene T, Cheng-Yi L.** Nationwide surveillance of antimicrobial resistance among non-fermentative Gram-negative bacteria in Intensive Care Units in Taiwan: SMART programme data 2005. *International Journal of Antimicrobial Agents* 33 (2009) 266–271.
203. **El Amari EB, Chamot E, Auckenthaler R, Pechere JC, Van Delden C.** Influence of previous exposure to antibiotic therapy on the susceptibility pattern of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremic isolates. *Clin Infect Dis* 2001;33:1859-64.
204. **Zhanell GG, Decorby M, Nichol KA, Baudry PJ, Karlowsky JA, Lagace-Wiens PR, McCracken M, Mulvey MR, Hoban DJ.** Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant enterococci and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in intensive care units in Canada: Results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study (2005-2006). *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2008 May; 19(3):243-9.
205. **Friedland I, Lue Stinson, Margaretmary Ikaidi, Sandra Harm, Gail L. Woods .** Phenotypic antimicrobial resistance patterns in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter*: results of a Multicenter Intensive Care Unit Surveillance Study, 1995-2000. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 45 (2003) 245–250.
206. **Makedou KG, E.P. Tsiakiri, A.G. Bisiklis, M. Chatzidimitriou, A.A. Halvantzis, K. Ntoutsou, S. Alexiou-Daniel.** Changes in antibiotic resistance of the most common Gram-negative bacteria isolated in intensive care units. *Journal of Hospital Infection* (2005) 60, 245–248.
207. **Jones ME, Deborah C Draghi, Clyde Thornsberry, James A Karlowsky, Daniel F Sahn, Richard P Wenzel.** Emerging resistance among bacterial pathogens in the intensive care unit – a European and North American Surveillance study (2000–2002). *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*
208. **Carbonne A, Naas T, Blanckaert K, Couzigou C, Cattoen C, Chagnon J-L.** Investigation of a nosocomial outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1 producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a hospital setting. *J Hosp Infect* 2005; 60:14–8.
209. **Hidri N.** Identification d'*Acinetobacter* spp. au laboratoire. *Revue francophone des laboratoires* - avril 2012 - n° 441 :37-42.

210. **Villegas MV, Hartstein AI.** *Acinetobacter* outbreaks (1977-2000). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003;24:284-95.
211. **Barnaud G, Zihoune N, Ricard JD, et al.** Two sequential outbreaks caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing OXA-58 ou OXA-72 oxacillinase in an intensive care unit in France. *J Hosp Infect* 2010;76: 358-60.
212. **Friedland I, Lue Stinson, Margaretmary Ikaidi, Sandra Harm, Gail L. Woods .** Phenotypic antimicrobial resistance patterns in *Pseudomonasaeruginosa* and *Acinetobacter*: results of a Multicenter Intensive Care Unit Surveillance Study, 1995-2000. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 45 (2003) 245–250.
213. **Young LS, Sabel AL, Price CS.** Epidemiologic, clinical, and economic evaluation of an outbreak of clonal multidrug-resistant *Acinetobacterbaumannii* infection in a surgical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28:1247–54.
214. **D'Agata EM, Thayer V, Schaffner W.** An outbreak of *Acinetobacter baumannii*: the importance of cross-transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000;21:588–91.
215. **Simor AE, Lee M, Vearncombe M, Jones-Paul L, Barry C, Gomez M, et al.** An outbreak due to multiresistant *Acinetobacter baumannii* in burn unit: risk factors for acquisition and management. *Infect Control. Hosp Epidemiol* 2002; 23:261–7.
216. **Villari P, Iacuzio L, Vozella EA, Bosco U.** Unusual genetic heterogeneity of *Acinetobacter baumannii* isolates in a university hospital in Italy. *Am J Infect Control* 1999; 27:247–53.
217. **Valencia R, Arroyo LA, Conde M, et al.** Nosocomial outbreak of infection with pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009;30: 257–63.
218. **Baran G, Ayse Erbay Hurrem Bodur, Pinar Onguru, Esragul Akıncı, Neriman Balaban, Mustafa A. Cevik.** Risk factors for nosocomial imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *International Journal of Infectious Diseases* (2008) 12, 16—21.
219. **Lautenbach E, Synnestvedt M, Weiner MG, et al.** Epidemiology and impact of imipenem-resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009;30:1186–92.
220. **Del Mar T M, Cartelle M, Pertega S, et al.** Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk factors for colonisation and infection. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:540–6.
221. **Michalopoulos AS, Tsiodras S, Rellos K, Mentzelopoulos S, Falagas ME.** Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:115—21
222. **Frasca D, C. Dahyot-Fizelier, O. Mimosz.** La colistine en réanimation. *Réanimation* (2008) 17, 251—258.

223. **Motaouakkil S , B Charra, A Hachimi, H Nejmi, A Benslama, N Elmdaghri, H Belabbes, M Benbachir.** Colistin and rifampicin in the treatment of nosocomial infections from multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Infection* (2006) 53, 274e278.
224. **Naas T, Bentchouala C, Cuzon G, Yaou S, Lezzar A, Smati F, Nordmann P.** Outbreak of *Salmonella enterica* serotype *Infantis* producing ArmA 16S RNA methylase and CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamase in a neonatology ward in Constantine, Algeria. *Int J Antimicrob Agents*. 2011 Aug;38(2):135-9.
225. **Borcan E, Ghița CM, Chifiriuc MC, Maruțescu L, Isar C, Lazar V.** Antibiotic resistance of Gram negative bacilli strains isolated from the Intensive Care Unit in Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 2009 ; 68(4):228-34.
226. **Pena C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallares R, Linares J, et al.** An outbreak of hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia, including strains producing extended-spectrum β -lactamase. *J Hosp Infect* 2001;47:53–9.
227. **Carrer A, Lassel L, Fortineau N, Mansouri M, Anguel N, Richard C, Nordmann P.** Outbreak of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in the intensive care unit of a French hospital. *Microb Drug Resist*. 2009 Mar; 15(1):47-54.
228. **Van der Donk M, P. S. Beisser, J. A. A. Hoogkamp-Korstanje, C. A. Bruggeman, E. E. Stobberingh.** A 12 year (1998–2009) antibiotic resistance surveillance of *Klebsiella pneumoniae* collected from intensive care and urology patients in 14 Dutch hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 855–858.
229. **Mohammedi I, A. Denis, S. Duperret, F. Chapuis, D. Ploin, P. Petit.** Facteurs de risque d'infection à *Escherichia coli* résistant à l'amoxicilline–acide clavulanique en réanimation. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 22 (2003) 711–715.
230. **Soussy CJ, Cavallo JD, Courcol R, Drugeon H, Fabre R, Jarlier V, et al.** Sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichiacoli* isolées en 1998 et 1999 : résultats d'une enquête multicentrique française. *Med Mal Infect* 2000; 30:650–6.
231. **Lepelletier D, Caroff N, Reynaud A, Richet H.** *Escherichia coli*: epidemiology and analysis of risk factors for infections caused by resistant strains. *Clin Infect Dis* 1999; 29:548–52.
232. **Mohammedi I, Tigaud S, Tournadre JP.** Emergence of piperacillin–tazobactam-resistant *Escherichia coli*. *Intensive Care Med* 2000; 26:1584.
233. **Kang S, Kim SH, Park WB, et al.** Bloodstream infections caused by enterobacter species :predictors of 30-day mortality rate and impact of broad-spectrum cephalosporin resistance on outcome. *Clin Infect Diseases* 2004; 39(6): 812-818.
224. **Shawn R. Lockhart, Murray A. Abramson, Susan E. Beekmann, Gale Gallagher, Stefan Riedel, Daniel J. Diekema, John P. Quinn, and Gary V. Doern.** Antimicrobial resistance among gram-negative bacilli causing infections in intensive care unit patients in the united states between 1993 and 2004. *Journal of clinical microbiology*. 2007, Vol. 45, No. 1 p. 3352–3359.

225. **Segonds C, H. Monteil, G. Chabanon.** Espèces du complexe *Burkholderia cepacia* : épidémiologie, pathogénicité et résistance aux antibiotiques. Les antibiotiques 2006 : Vol 8. 43-50.
226. **Saiman L et al.** Infection Control recommendations for patients with cystic fibrosis: microbiology, important pathogens, and infection control practices to prevent patient-to-patient transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 24 : Suppl 5.
227. **Jones AM et al.** *Burkholderia cepacia*: current clinical issues, environmental controversies and ethical dilemmas. *Eur Respir J* 2001;17:295-301.
228. **Marty N, Segonds C, Chabanon G.** les infections à *Burkholderia cepacia* : épidémiologie et résistance aux antibiotiques. *La lettre de l'infectiologue* 1998, 203-206.
229. **Lavigne JP, J.-B. Gaillard, G. Bourg, C. Tichit, E. Lecaillon, A. Sotto.** Extended-spectrum b-lactamases-producing *Stenotrophomonas maltophilia* strains: CTX-M enzymes detection and virulence study. *Pathologie Biologie* 56 (2008) 447–453
230. **Waters VJ, Gómez MI, Soong G, Amin S, Ernst RK, Prince A.** Immunostimulatory properties of the emerging pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Infect Immun* 2007; 75:1698–703.
231. **Louis D. Sanchez-Velazquez, De Leon Rosales S, and M. Sigfrido Rangel Frausto.** The Burden of Nosocomial Infection in the Intensive Care Unit: Effectson Organ Failure, Mortality and Costs. A Nested Case-Control Study. *Archives of Medical Research* 37 (2006) 370–375.
232. **Suka M, Yoshida K, Takezawa J.** Impact of Intensive Care Unit-Acquired Infection on Hospital Mortality in Japan: A Multicenter Cohort Study. *Environmental Health and Preventive Medicine* 9, 53–57, March 2004.
233. **Mendonça N, Ferreira E, Louro D, Caniça M.** Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of extended- and broad-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated in Portugal. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2009; 34: 29-37.
234. **Kosako Y, Tamura K, Sakazaki R, Miki K.** *Klebsiella ornithinolytica* sp. nov., formerly known as ornithine-positive *Klebsiella oxytoca*. *Curr Microbiol.* 1989;18:201–6.
235. **Solak Y, Enes Elvin Gul, Huseyin Atalay, Nejdet Genc, and Halil Z. Tonbul.** A rare human infection of *Raoultella ornithinolytica* in a diabetic foot lesion. *Ann Saudi Med.* 2011 Jan-Feb; 31(1): 93–94.
236. **Castanheira M, Lalitagauri M. Deshpande, Joseph R. DiPersio, Julia Kang, Melvin P. Weinstein, and Ronald N. Jones.** First Descriptions of blaKPC in *Raoultella* spp. (*R. planticola* and *R. ornithinolytica*): Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Journal Of Clinical Microbiology*, 2009, 4129–4130.

237. **Morais VP, Daporta MT, Bao AF, Campello MG, Andrés GQ.** Enteric fever-like syndrome caused by *Raoultella ornithinolytica* (*Klebsiella ornithinolytica*) *J Clin Microbiol.* 2009;47:868–9.
238. **Nijssen S, A. Florijn, M.J.M. Bonten, F.J. Schmitz, J. Verhoef, A.C.** Fluit. Beta-lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European Enterobacteriaceae isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents* 24 (2004) 585–591
239. **Giraud-Morin C, Fosse T.** Évolution récente et caractérisation des entérobactéries productrices de BLSE au CHU de Nice (2005–2007). *Pathologie Biologie* 56 (2008) 417–423
240. **Canton R, and Coque,T.M.** The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* (2006) 9: 466-475.
241. **Ahmed ZB, Ayad A, Mesli E, Messai Y, Bakour R, Drissi M.** CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in the intensive care unit of Tlemcen Hospital, Algeria. *East Mediterr Health J.* 2012 Apr;18(4):382-6.
242. **Nedjai S, Barguigua A, Djahmi N, Jamali L, Zerouali K, Dekhil M, Timinouni M.** Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Med Mal Infect.* 2012; 42(1):20-9
243. **Iabadene,H., Bakour,R., Messai,Y., Da,C.A., and Arlet,G.** Detection of bla CTX-M-14 and aac(3)-II genes in *Salmonella enterica* serotype Kedougou in Algeria. *Med Mal Infect* 2009;39: 806-807.
244. **Iabadene,H., Messai,Y., Ammari,H., Ramdani-Bouguessa,N., Lounes,S., Bakour,R., and Arlet,G.** (2008) Dissemination of ESBL and Qnr determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria. *J Antimicrob Chemother*62: 133-136.
245. **Meradi,L., Djahoudi,A., Abdi,A., Bouchakour,M., Perrier Gros Claude,J.D., and Timinouni,M.** (2011) [Qnr and aac (6')-Ib-cr types quinolone resistance among Enterobacteriaceae isolated in Annaba, Algeria]. *Pathol Biol (Paris)*59: e73-e78.
246. **Messai Y, Benhassine T, M. Naim, G. Paul and R. Bakour.**Prevalence of β -lactams resistance among *Escherichia coli* clinical isolates from a hospital in Algiers. *Rev Esp Quimioterap*, June 2006; Vol. 19 (N° 2): 144-151.
247. **Messai,Y., Iabadene,H., Benhassine,T., Alouache,S., Tazir,M., Gautier,V. et al.**Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathol Biol (2008)*56: 319-325.
- 248.**Touati A, Benallaoua S, Djoudi F, Madoux J, Brasme L, De Champs C.** Characterization of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains isolated from hospital environments in Algeria. *Microb Drug Resist.* 2007; 13(2):85-9.
249. **Kermas R, Touati A, Brasme L, Le Magrex-Debar E, Mehrane S, Weill FX, De Champs C.** Characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Salmonella enterica* serotype Brunei and Heidelberg at the Hussein Dey hospital in Algiers (Algeria). *Foodborne Pathog Dis.* 2012; 9(9):803-8.

250. **Naas T, Bentchouala C, Cuzon G, Yaou S, Lezzar A, Smati F, Nordmann P.** Outbreak of *Salmonella enterica* serotype *Infantis* producing *ArmA* 16S RNA methylase and CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamase in a neonatology ward in Constantine, Algeria. *Int J Antimicrob Agents*. 2011 Aug;38(2):135-9
251. **Carpentier M, V. Appere, P. Saliou, A. de Tinteniac, H. Floch, F. Le Gall et al.** Outbreak of extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in an intensive care unit (Brest) Épidémie à *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu dans deux services de réanimation (Brest). *Médecine et maladies infectieuses* (2012).
252. **Al Sweih N, Salama MF, Jamal W, Al Hashem G, Rotimi VO.** An outbreak of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in an intensive care unit of a teaching hospital in Kuwait. *Indian J Med Microbiol*. 2011; 29(2):130-5.
253. **Souli M, Galani I, Antoniadou A, Papadomichelakis E, Poulakou G, Panagea T, Vourli S, Zerva L, Armaganidis A, Kanellakopoulou K, Giamarellou H.** An outbreak of infection due to beta-Lactamase *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin Infect Dis*. 2010; 50(3):364-73.
254. **Shu JC, Chia JH, Kuo AJ, Su LH, Wu TL.** A 7-year surveillance for ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at a university hospital in Taiwan: the increase of CTX-M-15 in the ICU. *Epidemiol Infect*. 2010 Feb;138(2):253-63.
255. **Ndugulile F, Jureen R, Harthug S, Urassa W, Langeland N.** Extended spectrum beta-lactamases among Gram-negative bacteria of nosocomial origin from an intensive care unit of a tertiary health facility in Tanzania. *BMC Infect Dis*. 2005; 5:86.
256. **Dumpis U, Iversen A, Balode A, Saule M, Miklasevics E, Giske CG.** Outbreak of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* of sequence type 199 in a Latvian teaching hospital. *APMIS*. 2010 Sep 1;118(9):713-6
257. **Valverde A, Coque TM, García-San Miguel L, Baquero F, Cantón R.** Complex molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae*: a long-term perspective from a single institution in Madrid. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 61(1):64-72.
258. **Zhanel GG, Decorby M, Nichol KA, Baudry PJ, Karlowsky JA, Lagace-Wiens PR, McCracken M, Mulvey MR, Hoban DJ.** Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant enterococci and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in intensive care units in Canada: Results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study (2005-2006). *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2008 May;19(3):243-9.
259. **Miftode E, Dorneanu O, Badescu A, Ghibu L, Leca D, Vremera T, Mereuță A.** Emergence of a new group CTX-M enzyme in Romania and risk factors for extended spectrum beta-lactamase producing *E. coli* infections. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 2012 Apr-Jun;116(2):477-80.

260. **Damjanova I, Toth A, Paszti J, Hajbel-Vekony G, Jakab M, Berta J, et al.** Expansion and countrywide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type *b*-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clones in Hungary in 2005: the new 'MRSA's'? *J Antimicrob Chemother* 2008;62:978–85.
261. **Lytsy B, Sandegren L, Tano E, Torell E, Andersson DI, Melhus A.** The first major extended-spectrum *b*-lactamase outbreak in Scandinavia was caused by clonal spread of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* producing CTX-M-15. *APMIS* 2008; 116:302–8
262. **Lonchel CM, Melin P, Gangoué-Piéboji J, Assoumou MC, Boreux R, De Mol P.** Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Cameroonian hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013 Jan;32(1):79-87
263. **Iroha IR, Esimone CO, Neumann S, Marlinghaus L, Korte M, Szabados F, Gatermann S, Kaase M.** First description of *Escherichia coli* producing CTX-M-15- extended spectrum beta lactamase (ESBL) in out-patients from south eastern Nigeria. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2012; 11:19.
264. **Kim B, Kim J, Seo MR, Wie SH, Cho YK, Lim SK, Lee JS, Kwon KT, Lee H, Cheong HJ, Park DW, Ryu SY, Chung MH, Ki M, Pai H.** Clinical characteristics of community-acquired acute pyelonephritis caused by ESBL-producing pathogens in South Korea. *Infection.* 2013.
265. **Park SH, Byun JH, Choi SM, Lee DG, Kim SH, Kwon JC, Park C, Choi JH, Yoo JH.** Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in the community and hospital in Korea: emergence of ST131 producing CTX-M-15. *BMC Infect Dis.* 2012; 12:149.
266. **Xia S, Hendriksen RS, Xie Z, Huang L, Zhang J, Guo W, Xu B, Ran L, Aarestrup FM.** Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates from infections in humans in Henan Province, China. *J Clin Microbiol.* 2009 Feb;47(2):401-9
267. **Johnson JR, Urban C, Weissman SJ, Jorgensen JH, Lewis JS 2nd, Hansen G, Edelstein PH.** Molecular epidemiological analysis of *Escherichia coli* sequence type ST131 (O25:H4) and blaCTX-M-15 among extended-spectrum- β -lactamase-producing *E. coli* from the United States, 2000 to 2009. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 May;56(5):2364-70.
268. **Potron A, Munoz-Price LS, Nordmann P, Cleary T, Poirel L.** Genetic features of CTX-M-15-producing *Acinetobacter baumannii* from Haiti. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55(12):5946-8.
269. **Ruppé E.** Epidémiologie des beta-lactamases à spectre élargie : l'avènement des CTX-M. antibiotiques (2010) 12, 3-16.
270. **Valverde A, Coque TM, Sánchez-Moreno MP, Rollan A, Baquero F, Cantón R.** Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae during non-outbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol* 2004; 42(10): 4769–75.

271. **Meunier D, Jouy E, Lazizzera C, Kobisch M, Madec JY.** CTX-M-1- and CTX-M-15-type beta-lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28(5):402–7.
272. **Boyer M, A. Bignon, R. Dessein, K. Faure, B. Guery, E. Kipnis.** Céfoxitine et BLSE. *Médecine et maladies infectieuses* 42 (2012) 126–128
273. **Bush K.** Alarming b-lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Current Opinion in Microbiology* 2010, 13:558–564.
274. **Zhou T, Zhang X, Guo M, Ye J, Lu Y, Bao Q, Chi W.** Phenotypic and molecular characteristics of carbapenem-non-susceptible enterobacteriaceae from a teaching hospital in wenzhou, southern china. *Jpn J Infect Dis.* 2013; 66(2):96-102.
275. **Peleg AY, Seifert H, Paterson DL.** *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21:538–82.
276. **Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA.** Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:3471–84.
277. **Joly-Guillou ML.** Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11:868–73.
278. **Fournier PE, Richet H.** The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis* 2006; 42:692–9.
279. **Bergogne-Berezin E, Towner KJ.** *Acinetobacter* spp. as Nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:148–65.
280. **Baadani AM, Thawadi SI, El-Khizzi NA, Omrani AS.** Prevalence of colistin and tigecycline resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from 2 hospitals in Riyadh Region over a 2-year period. *Saudi Med J.* 2013 Mar; 34(3):248-53.
281. **O'Hara JA, Ambe LA, Casella LG, Townsend BM, Pelletier MR, Ernst RK, Shanks RM, Doi Y.** Activities of Vancomycin-Containing Regimens against Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii* Clinical Strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 May;57(5):2103-8
282. **Poirel L, Nordmann P.** Résistance aux b-lactamines chez *Acinetobacter baumannii* : évolution et émergence de nouveaux mécanismes. *Antibiotiques* 2006; 8:100–7.
283. **Poirel L, Nordmann P.** Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12:826– 36
284. **Héritier C, Poirel L, Nordmann P.** Cephalosporinase overexpression as a result of insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:123–30

285. **Touati M, Diene SM, Racherache A, Dekhil M, Djahoudi A, Rolain JM** .Emergence of blaOXA-23 and blaOXA-58 carbapenemase-encoding genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from University Hospital of Annaba, Algeria. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 40(1):89-91
286. **Hammami S, Ghozzi R, Saidani M, Ben Redjeb S**. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-23 in Tunisia. *Tunis Med*. 2011;89(7):638-43.
287. **Mansour W, Poirel L, Bettaieb D, Bouallegue O, Boujaafar N, Nordmann P**. Dissemination of OXA-23-producing and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a University Hospital in Tunisia. *Microb Drug Resist*. 2008; 14(4):289-92
288. **Al-Hassan L, El Mehallowy H, Amyes SG**. Diversity in *Acinetobacter baumannii* isolates from paediatric cancer patients in Egypt. *Clin Microbiol Infect*. 2013; 15
289. **Espinal P, Macia MD, Roca I, Gato E, Ruíz E, Fernandez-Cuenca F, Oliver A, Rodriguez-Bano J, Bou G, Tomas M, Vila J**. First report of an OXA-23 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical isolate related to Tn2006 in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Jan;57(1):589-91
290. **Kusradze Ia, Diene SM, Goderdzishvili M, Rolain JM**. Molecular detection of OXA carbapenemase genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Iraq and Georgia. *Int J Antimicrob Agents*. 2011 Aug; 38(2):164-8.
291. **Corrêa LL, Botelho LA, Barbosa LC, Mattos CS, Carballido JM, de Castro CL, Mondino PJ, de Paula GR, de Mondino SS, de Mendonça-Souza CR**. Detection of bla(OXA-23) in *Acinetobacter* spp. isolated from patients of a university hospital. *Braz J Infect Dis*. 2012 Nov; 16(6):521-6
292. **Olaitan AO, Berrazeg M, Fagade OE, Adelowo OO, Alli JA, Rolain JM** . Emergence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemase, Nigeria. *Int J Infect Dis*. 2013 Jan 18
293. **Chen Z, Liu W, Zhang Y, Li Y, Jian Z, Deng H, Zou M, Liu Y**. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from XiangYa Hospital, in Hunan Province, China. *J Basic Microbiol*. 2013; 53(2):121-7.
294. **Qiao Z, Weidong Xu, Yuanjian Wu, and Hongxing Xu**. Clonal Spread of Carbapenem Non-susceptible *Acinetobacter baumannii* in an Intensive Care Unit in a Teaching Hospital in China. *Ann Lab Med* 2012;32:413-419.
295. **Zhou Z, Du X, Wang L, Yang Q, Fu Y, Yu Y**. Clinical carbapenem-resistant *Acinetobacter baylyi* strain coharboring blaSIM-1 and blaOXA-23 from China. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011; 55(11):5347-9.
296. **Diene SM, Fall B, Kempf M, Fenollar F, Sow K, Niang B, Wade B, Raoult D, Rolain JM**. Emergence of the OXA-23 carbapenemase-encoding gene in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from the Principal Hospital of Dakar, Senegal. *Int J Infect Dis*. 2013 Mar; 17(3):e209-10.

297. **Nowak P, Paulina Paluchowska, Alicja Budak.** Distribution of *bla*OXA genes among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial strains in Poland. *New Microbiologica*, **35**, 317-325, 2012.
298. **Lee MH, Chen TL, Lee YT, Huang L, Kuo SC, Yu KW, Hsueh PR, Dou HY, Su IJ, Fung CP.** Dissemination of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying *Bla*(OxA-23) from hospitals in central Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* 2012 (12) 167-3.
299. **Peymani A, Higgins PG, Nahaei MR, Farajnia S, Seifert H.** Characterisation and clonal dissemination of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* in Tabriz, northwest Iran. *Int J Antimicrob Agents.* 2012; 39(6):526-8.
300. **Liakopoulos A, Miriagou V, Katsifas EA, Karagouni AD, Daikos GL, Tzouveleki LS, Petinaki E.** Identification of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* in Greece, 2010 to 2011. *Euro Surveill.* 2012 15;17(11).
301. **Lee G, Lee JH, Lim K, Suh IB, Ryu SW, Eom YB, Kim SH, Park M, Kim JB.** Prevalence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23-like from a healthcare facility of Gangwon Province, South Korea. *int J Antimicrob Agents.* 2012 May;39(5):452-3.
302. **Krizova L, Bonnin RA, Nordmann P, Nemeč A, Poirel L.** Characterization of a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain carrying the *bla*NDM-1 and *bla*OXA-23 carbapenemase genes from the Czech Republic. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67(6):1550-2.
303. **Mamma C, Bonura C, Aleo A, Calà C, Caputo G, Cataldo MC, Di Benedetto A, Distefano S, Fasciana T, Labisi M, Sodano C, Palma DM, Giammanco A.** Characterization of *Acinetobacter baumannii* from intensive care units and home care patients in Palermo, Italy. *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17(11):E12-5.
304. **Adams-Haduch JM, Onuoha EO, Bogdanovich T, Tian GB, Marschall J, Urban CM, Spellberg BJ, Rhee D, Halstead DC, Pasculle AW, Doi Y.** Molecular epidemiology of carbapenem-nonsusceptible *Acinetobacter baumannii* in the United States. *J Clin Microbiol.* 2011;49(11):3849-54
305. **Giamarellou H.** Treatment options for multidrug-resistant bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2006; 4:601–18.
306. **Djahmi N, Messad N, Nedjai S, Moussaoui A, Mazouz D, Richard JL, Sotto A, Lavigne JP.** Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* strains isolated from inpatients with infected diabetic foot ulcers in an Algerian University Hospital. *Clin Microbiol Infect.* 2013.
307. **Djoudi F, Bonura C, Benallaoua S, Touati A, Touati D, Aleo A, Cala C, Fasciana T, Mamma C.** Panton-Valentine leukocidin positive sequence type 80 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying a staphylococcal cassette chromosome *mec* type IVc is dominant in neonates and children in an Algiers hospital. *New Microbiol.* 2013; 36(1):49-55.

308. **Antri K, Rouzic N, Dauwalder O, Boubekri I, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Tazir M, Ramdani-Bouguessa N, Etienne J.** High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone ST80-IV in hospital and community settings in Algiers. *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17(4):526-32
309. **Ouchenane Z, Smati F, Rolain JM, Raoult D.** Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Algeria. *Pathol Biol (Paris).* 2011; 59(6):e129-32
310. **Antri K, Rouzic N, Boubekri I, Dauwalder O, Beloufa A, Ziane H, Djennane F, Neggazi M, Benhabyles B, Bes M, Tazir M, Etienne J, Ramdani-Bouguessa N.** [High prevalence of community- and hospital-acquired infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidin gene in Algiers]. *pathol Biol (Paris).* 2010;58:15-20
311. **Ramdani-Bouguessa N, Bes M, Meugnier H, Forey F, Reverdy ME, Lina G, Vandenesch F, Tazir M, Etienne J.** Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospital. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50(3):1083-5.
312. **Morimoto M, Miyamoto H, Murakami S, Fukuoka M, Nishimiya T, Osawa H.** Staphylococcal Cassette Chromosome mec Types and Antimicrobial Susceptibilities of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Our Hospital. *Rinsho Biseibutshu Jinsoku Shindan Kenkyukai Shi.* 2013; 23(2):61-7.
313. **Shallcross LJ, Williams K, Hopkins S, Aldridgew, Johnson AM, Hayward A.C.** Panton–Valentine leukocidin associated staphylococcal disease: a cross-sectional study at a London hospital, England. *Clin. Microbiol. Infect* 2010. **16**, 1644- 1648
314. **Adedeji A, Weller TMA, Gray JW.** MRSA in children presenting to hospitals in Birmingham, UK. *J. Hosp. Infect.* **65**, 29-34.
315. **Shehabi AA, Abu-Yousef R, Badran E, Al-Bakri AG, Abu-Qatouseh LF, Becker K.** Major Characteristics of *Staphylococcus aureus* colonizing Jordanian infants. *Pediatr Int.* 2013.
316. **Chini V, Petinaki E, Meugnier H, Foka A, Bes M, Etienne J, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I.** Emergence of a new clone carrying Panton-Valentine leukocidin genes and staphylococcal cassette chromosome mec type V among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Greece. *Scand J Infect Dis.* 2008;40(5):368-72.
317. **Ben Nejma M, Mastouri M, Bel hadj jrad B, Nour M.** Characterization of ST80 Panton-Valentine leukocidin-positive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone in Tunisia. *Diagn. Micr. Infec. Dis,* 2008.
318. **O'Brien FG, Pearman JW, Gracey M, Riley TV, and Grubb WB.** Community strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* involved in a hospital outbreak. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37:2858–2862.

319. Saiman, L, M. O'Keefe, P. L. Graham, F. Wu, B. Said-Salim, B. Kreiswirth, A. LaSala, P. M. Schlievert, and P. Della-Latta. Hospital transmission of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among postpartum women. Clin. Infect. Dis. 2003 : 37:1313–1319.

ABRÉVIATIONS:

AFLP: *Amplified fragment length polymorphism*

Ag: Antigène.

ARI: *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème

ATS: American Thoracic Society.

BLC : Bactériémie liée aux cathéters.

BLSE : β -lactamase à spectre élargie

BMR : bactéries multi-résistantes.

BTP : Brossage télescopique protégé.

CHN : Céphalosporinase haut niveau.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CRP : C-réactive protéine.

CVC : Cathéter veineux central.

C3G : Céphalosporines de troisième génération.

ECBU : étude cyto bactériologique des urines.

EPIIC: Extended prevalence of infection in intensive care.

ERV : *Entérocoque* résistant à la vancomycine.

IAS : Infection associée aux soins.

ILC : infection liée au cathéter.

IN : Infection nosocomiale

IOT : Intubation œso-trachéale.

IU : Infections urinaires.

IUN : Infection urinaire nosocomiale.

LBA : Lavage broncho-alvéolaire.

LPS: Lipopolysaccharide.

MALDI-TOF-MS: Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry.

MALDI-RE: MALDI-Resequencing

MDR : Multi drogue résistante.

MLEE: Multilocus enzyme electrophoresis

MLST: Multilocus sequencing typing

MRSA : Méthicillino-résistance du *Staphylococcus aureus*.

NS : Non significatif.

OR: Odds ratio.

OXA: Oxacillinase.

PN : Les pneumopathies nosocomiales

PAVM : Pneumopathie acquise sous ventilation mécanique.

PCR : Polymérase chaîne réaction.

PCR-ESI-MS : PCR-Electrospray Ionization Mass Spectrometry

PCT : Procalcitonine.

PPD : Prélèvement distal protégé.

PVL : Panton-valentine leukocidin

REDI : Ration exposition aux dispositifs invasifs.

RFLP: Restriction fragment length polymorphism.
SELDI-TOF MS: Surface-Enhanced Laser Desorption-Ionization Time-Of-Flight
SFAR : Société française d'anesthésie réanimation.
SRLF : Société de langue française de réanimation.
TREM-1: Triggering receptor expressed on myeloid cells.
TSST :Toxine du choc toxique staphylococcique
UFC : Unité formant colonie.
VPP : Valeur prédictive positive.
VPN : Valeur prédictive négative.

Liste des antibiotiques :

AMP : Ampicilline.
AMC : Ampicilline+ acide clavulanique.
AN: Amikacine.
ATM:Aztréonam.
C: Chloramphénicol.
CAZ : Ceftazidime
CIP : Ciprofloxacine.
CRO : Ceftriaxone.
CS : Colistine.
CTX : Céfotaxime.
CZ : Cefazoline.
E : Erythromycine
ERT : Ertapénème.
FOX: Cefoxitine
FUC : Acide fucidique
FT : Furantoïnes.
GN : Gentamycine
IMP : Imipénème.
K : Kanamycine.
MERO : Méropénème.
MLs : Macrolides, lincosamides, streptogramines.
NAL : Acide nalidixique.
NET : Nételmicine.
OX : oxacilline.
PEF : Pefloxacine.
PIP : Pipéracilline
PT : Pristinamycine
RA : Rifampicine.
SXT : Sulfaméthoxazole triméthoprim.
TCC : Ticarcilline acide clavulanique
TEI : teicoplanine.
TET : Tétracycline.
TOB : Tobramycine
TZP : Pipéracilline tazobactam.
VA : vancomycine.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Critères d'interprétation d'un ECBU chez un patient sondé.	35
Tableau 2 : Principales méthodes de typage moléculaire.	65
Tableau 3 : Exemple score d'identification bactérienne obtenue par MALDI-TOF	73
Tableau 4 : Liste des amorces.	75
Tableau 5 : Amorces pour typage des carbapénèmase <i>Acinetobacter baumannii</i> .	76
Tableau 6 : Conditions de PCR.	76
Tableau 7 : Liste des amorces utilisées.	77
Tableau 8 : Caractéristiques épidémiologiques des patients admis en réanimation.	80
Tableau 9 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.	81
Tableau 10 : Exposition des patients aux dispositifs invasifs :	81
Tableau 11 : Durée d'exposition des patients aux dispositifs invasifs.	82
Tableau 12 : Ratio d'exposition au dispositif invasif.	82
Tableau 13 : Répartition des IN acquises en réanimation.	82
Tableau 14 : Délai de survenue des infections nosocomiales	83
Tableau 15 : Délai de survenue des PAVM.	84
Tableau 16 : Répartition des bactériémies selon la porte d'entrée	84
Tableau 17 : Coût engendré par l'allongement de la durée de séjour.	86
Tableau 18 : Germes isolés d'environnement du service réanimationmédicale	87
Tableau 19 : Germes isolés des infections nosocomiales acquises en réanimation	91
Tableau 20 : Germes isolés des PAVM acquises en réanimation	92
Tableau 21 : Germes isolés des IUN acquises en réanimation	94
Tableau 22 : Germes isolés au cours des bactériémies nosocomiales acquises en réanimation	95
Tableau 23 : Germes isolés des BLC acquises en réanimation.	95
Tableau 24 : Résistance aux antibiotiques des souches <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées site du en fonction du prélèvement	96
Tableau 25 : Résistance aux antibiotiques des souches <i>Klebsiella oxytoca</i> isolées en fonction du site du prélèvement	97
Tableau 26 : Fréquence des phénotypes de résistance des isolats <i>Klebsiella sp</i> aux antibiotiques.	98
Tableau 27 : Résistance de l' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux antibiotiques.	100

Tableau 28: Fréquence des phénotypes de résistance des isolats d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux B lactamines	101
Tableau 29 : Résistance du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques.	103
Tableau 30: Fréquence des phénotypes de résistance des isolats <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux B lactamines.	104
Tableau 31 : répartition des sérotypes des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolés des IN acquises en réanimation	105
Tableau 32 : Répartition des sérotypes de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> identifiées en réanimation en fonction de la résistance aux carbapénèmes	106
Tableau 33 : Résistance aux antibiotiques des souches <i>E.coli</i> isolées en fonction du site du prélèvement	108
Tableau 34: Fréquence des phénotypes de résistance des isolats d' <i>E.coli</i> aux antibiotiques	109
Tableau 35: Résistance aux antibiotiques d' <i>Enterobacter sp</i>	111
Tableau 36 : Fréquence des phénotypes de résistance des isolats d' <i>Enterobacter sp</i> aux antibiotiques.	112
Tableau 37: Résistance aux antibiotiques des souches de <i>Proteus.sp</i> en fonction du site du prélèvement	113
Tableau 38 : Fréquence des phénotypes de résistance des isolats <i>Proteus sp</i> aux antibiotiques.	114
Tableau 39 : Résistance aux antibiotiques des isolats <i>Morganella morganii</i> et <i>Serratia marcescens</i> .	115
Tableau 40 : Fréquence des phénotype de résistance des isolats <i>Morganella morganii</i> et <i>Serratia marcescens</i> aux B lactamines.	116
Tableau 41: Résistance aux antibiotiques de <i>Staphylococcus aureus</i> .	117
Tableau 42: Fréquence des phénotypes de résistance des isolats <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques.	117
Tableau 43 : Résistance aux antibiotiques de <i>Burkholderia cepacia</i> et de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	119
Tableau 44 : Résistance aux antibiotiques du genre <i>Enterococcus sp</i> .	119
Tableau 45: Résistance aux antibiotiques <i>Haemophilus influenzae</i> .	120
Tableau 46 : Indicateurs des infections nosocomiales dans le service réanimation.	120
Tableau 47: gènes identifiés après séquençage	145
Tableau 48 : Caractéristiques phénotypiques et génotypiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	150
Tableau 48: Caractéristiques phénotypiques et génotypiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (suite).	151
Tableau 49 : Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches de <i>Raoultella ornithinolytica</i> .	152

Tableau 50: Caractéristiques phénotypiques et génotypiques d' <i>Enterobacter cloacae</i> .	153
Tableau 51: Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d' <i>E.coli</i> .	154
Tableau 52: Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	155
Tableau 52: Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> (suite).	156
Tableau 53: Incidence des IN en réanimation selon les études	165
Tableau 54 : Caractéristiques des patients	166
Tableau 55: REDI selon les études de la littérature.	168
Tableau 56: Incidence et densité d'incidence des IN selon les études	170
Tableau 56: Incidence et densité d'incidence des IN selon les études (suite).	170
Tableau 57: Germes isolés des IN acquises en réanimation	173
Tableau 58: Germes isolés au cours des PAVM selon les études.	175
Tableau 59: Germes isolés au cours des IUN selon les études.	178
Tableau 60 : Germes isolés au cours des BL-CVC selon les études	180
Tableau 61 : Germes isolés au cours des BN selon les études.	181
Tableau 62 : Résistance aux antibiotiques du <i>P.aeruginosa</i> selon les études	186
Tableau 63 : Niveau de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux antibiotiques	190
Tableau 64: Résistance aux antibiotiques des entérobactéries selon les études.	191
Tableau 65: Résistance du genre <i>Klebsiella</i> aux antibiotiques selon les études	193
Tableau 66: Résistance d' <i>E.coli</i> selon les études.	195
Tableau 67: Résistance des <i>Enterobacter cloacae</i> aux antibiotiques selon les études.	196
Tableau 68: Comparaison avec les études de la littérature	197
Tableau 69: Résistance du <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques selon les études.	198
Tableau 70: Résistance de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> et <i>Burkholderia cepacia</i>	200
Tableau 71 : Résistance de <i>Morganella morganii</i> et <i>Serratia marcescens</i> selon les études.	201

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Test double disque pour confirmation de BLSE	74
Figure 2 : E test imipenème de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	74
Figure 3: Nombre d'épisode IN au cours du séjour des patients en réanimation.	83
Figure 4 : Consommation des antibiotiques en réanimation médicale.	85
Figure 5: Germes isolés de l'environnement du service réanimation médicale.	89
Figure 6: Répartition des germes isolés au cours des PAVM précoces.	93
Figure 7: Répartition des germes isolés au cours des PAVM tardives.	93
Figure 8 : Fréquence d'isolement <i>Klebsiellapneumoniae</i> au cours de la période de surveillance des IN.	99
Figure 9: Fréquence d'isolement de <i>Klebsiellapneumoniae</i> au cours de la période de surveillance des IN.	99
Figure 10: Fréquence d'isolement <i>Klebsiellaoxytoca</i> au cours de la période de surveillance des IN.	99
Figure 11: Répartition de l'isolement de l' <i>Acinetobacter baumannii</i> au cours de la période de surveillance des IN.	101
Figure 12: Répartition des isolats de l' <i>Acinetobacter baumannii</i> sensible aux carbapénèmes au cours de la période de surveillance des IN.	102
Figure 13: Répartition des isolats de l' <i>Acinetobacter baumannii</i> résistant aux carbapénèmes au cours de la période de surveillance des IN.	102
Figure 14 : Répartition de l'isolement du <i>P.aeruginosa</i> au cours de la période de surveillance des IN.	104
Figure 15: Répartition des sérotypes du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	105
Figure 16: Répartition des isolements du <i>P.aeruginosa</i> P2 au cours de la période de surveillance des IN.	106
Figure 17: Répartition des isolements du <i>P.aeruginosa</i> P4 au cours de la période de surveillance des IN.	106
Figure 18: Répartition des isolements du <i>P.aeruginosa</i> P3 au cours de la période de surveillance des IN.	107
Figure 19: Répartition des isolements du <i>P.aeruginosa</i> P11 au cours de la période de surveillance des IN.	107
Figure 20: Répartition des isolements du <i>P.aeruginosa</i> P6 au cours de la période de surveillance des IN.	107
Figure 21: Fréquence d'isolement d' <i>E.coli</i> BLSE – au cours de la période de surveillance des IN.	110
Figure 22: Fréquence d'isolement d' <i>E.coli</i> BLSE+ au cours de la période de surveillance des IN.	110

Figure 23: Répartition des isolats d' <i>Enterobacter cloacae</i> BLSE+ au cours de surveillance des IN.	112
Figure 24: Répartition des isolements du <i>Proteus mirabilis</i> au cours de la période de surveillance des IN.	114
Figure 25: Répartition des isolements du <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA (+) au cours de la période de surveillance des IN.	118
Figure 26: Répartition des isolements du <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA (-) au cours de la période de surveillance des IN.	118
Figure 27: Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{CTX-M}</i> chez des souches de <i>Klebsiella</i> BLSE+.	122
Figure 28: Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{TEM}</i> chez des souches de <i>Klebsiella</i> BLSE+.	123
Figure 29: Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{SHV}</i> chez des souches de <i>Klebsiella</i> BLSE+.	123
Figure 30 : Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{CTX-M}</i> chez des souches d' <i>Enterobacter cloacae</i> BLSE+.	124
Figure 31: Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{TEM}</i> chez des souches d' <i>Enterobacter cloacae</i> BLSE+.	124
Figure 32: Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{SHV}</i> chez des souches d' <i>Enterobacter cloacae</i> BLSE+.	125
Figure 33: Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{CTX-M}</i> chez des souches d' <i>E.coli</i> BLSE+.	125
Figure 34: Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{SHV}</i> chez des souches d' <i>E.coli</i> BLSE+.	126
Figure 35 : Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{TEM}</i> chez des souches d' <i>E.coli</i> BLSE+.	126
Figure 36 : Résultats de l'amplification des gènes <i>Bla_{CTX-M}</i> et <i>Bla_{TEM}</i> de <i>Morganella morganii</i> .	127
Figure 37 : Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{NDM}</i> chez 41 souches d'entérobactéries.	127
Figure 38: Résultats de l'amplification du gène <i>Bla_{NDM-1}</i> chez des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .	128
Figure 39 : Résultats de l'amplification des gènes : <i>Bla_{oxa24}</i> , <i>Bla_{oxa23}</i> , <i>Bla_{oxa51/isaba1}</i> , <i>Bla_{oxa58}</i> chez des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .	128
Figure 40: Résultats de l'amplification des gènes <i>Bla_{oxa23}</i> des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .	129

Annexe 1

FICHE DE RENSEIGNEMENT

Nom : Prénom :

Age : Service :

Date d'admission :

Motif d'hospitalisation :

Date du prélèvement :

Nature du prélèvement :

Hospitalisation antérieure :

Oui Non

Service :

Durée d'hospitalisation :

Motif d'hospitalisation :

Antibiothérapie antérieure :

Oui Non

Antibiotique :

Durée de prescription :

Date du sondage urinaire :**Date de l'intubation :****Date de la mise en place du cathéter veineux :****1^{er} épisode infectieux :****Site infectieux :**

- Germes isolés :
- Résultat de l'antibiogramme :
- Résultat des tests complémentaires
- Profil de résistance

Infection nosocomiale : Oui Non**2^{ème} épisode infectieux :****Site infectieux :**

- Germes isolés :
- Résultat de l'antibiogramme :
- Résultat des tests complémentaires
- Profil de résistance

Infection nosocomiale : Oui Non**Réanimateur****Microbiologiste**

Annexe 2

1- Recherche de β -lactamase à spectre élargi (BLSE) :

1-1 Définition de la BLSE :

Les β -lactamase à spectre élargi ou étendu désignent les enzymes « β -lactamase » produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter sp.*

Ces enzymes codent pour la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et aux monobactam (aztreonam), mais n'ont aucune activité vis-à-vis des céphamycines (cefoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipénème).

1-2-Méthodes de détection de la BLSE :

1.2.1. Test de synergie : (selon Jarlier et Coll)

1-2-1-1- Principe :

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamase (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam).

1-2-1-2- Technique :

➤ *Entérobactéries :*

La recherche de la β -lactamase à spectre élargi se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme en déposant un disque (amoxicilline+acide clavulanique(AMC 20/10 μ g) à 30 cm (centre à centre) d'un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération Céfotaxime(CTX 30 μ g)ou Ceftriaxone(CRO 30 μ g).Incuber 18 heures à 35°C.

Lecture :

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de Champagne entre les disques : AMC et CTX, AMC et CAZ, AMC et ATM.

En absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques céphalosporines de 3^{ème} génération ou de monobactam.

Interprétation :

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes :Céfotaxime (CTX < 27mm), ceftazidime (CAZ <22mm), ceftriaxone (CRO < 25mm) et aztréonam(ATM< 27mm).

-La détection des BLSE chez les souches également hyper productrices de céphalosporinase (*Enterobacter*) est facilitée par la recherche d'une synergie entre amoxicilline +acide clavulanique et cefepime(CFP 30 μ g) ou cefpirone (CPO 30 μ g SFM) selon le communiqué CA-SFM 2005.

-Chez *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, les BLSE s'expriment à bas niveau, dans ce cas, le

test de synergie est optimisé en disposant les disques à une distance de 40 à 45mm au lieu de 30mm.

Chez *Klebsiella oxytoca*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Citrobacter koseri*, le test de synergie est positif avec aztreonam et/ou ceftriaxone, mais reste négatif avec ceftazidime dont l'activité est conservée, signe d'hyperproduction de β -lactamase naturelle chromosomique ou Aztreonamase.

➤ ***Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter sp* :**

La recherche de la β -lactamase à spectre élargi se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline+acide clavulanique (TCC 75/10 μ g) à 30 mm (centre à centre) avec un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération ceftazidime(CAZ 30ug) et aztreonam (ATM 30ug), cefepime (FEP 30 μ g). Incuber 18 heures à 35°C.

Lecture :

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de Champagne entre les disques: TCC et CAZ, TCC et ATM, TCC et FEP.

S'il y a absence de synergie, on peut rechercher la BLSE :

- Le rapprochement des disques TCC et CAZ (15 mm et 20 mm centre à centre) au lieu de 30 mm.
- La neutralisation de la céphalosporinase : faire le test de synergie sur MH additionné (250 mg/l à 500mg/l) de cloxacilline.

1.2.2. Test de confirmation du double disque :

Description de la technique :

A partir d'une culture de 18 heures préparer une suspension d'une opacité égale à 0,5McF selon la technique de l'antibiogramme.

-Application des disques :

- Pour les Entérobactéries : On dépose un disque d'AMC (20/10 μ g) et un disque de C3G (céfotaxime 30 μ g ou ceftriaxone 30 μ g) à une distance de 30 mm (centre à centre).
- Pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter sp* : On applique un disque de TCC (75/10 μ g) avec un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (ceftazidime 30 μ g) ou monobactam (aztreonam 30 μ g) à une distance de 25mm.

-Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure. La boîte gélosée ensemencée sera déposée le couvercle vers le haut à la température ambiante pendant 1 heure.

-Après 1H d'incubation sur la paillasse(T° ambiante), ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de céfotaxime ou ceftriaxone.

-Incuber la boîte 18H à 35°C.

-En routine, nous avons constaté une meilleure détection des BLSE en testant un disque de céfoperazone(75 μ g) avec un disque de TCC(75/10 μ g).

Lecture et interprétation :

Le test de double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération appliqué après pré diffusion du disque de l'AMC ou TCC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération.

Pour Pseudomonas et Acinetobacter, l'interprétation du test consiste à répondre résistant pour toutes les β -lactamines sauf pour imipénème.

2 - Test à la Cloxacilline :

Principe :

Pour certaines souches de bacilles à Gram négatif, il est parfois difficile de distinguer sur l'antibiogramme habituel les hypersécrétions de céphalosporinases(CHN) des β -lactamases à spectre élargi(BLSE).

La cloxacilline ajoutée au milieu pour l'antibiogramme(MH) inhibe in vitro les céphalosporinases et reste inefficace sur les penicillinases des bacilles à Gram négatif.

Méthode :

➤ Entérobactéries du groupe 1 et 2 :

La concentration de cloxacilline est de 0,25mg/ml, dans ce cas il faut dissoudre 25mg de cloxacilline dans l'eau distillée.Pour une boîte ronde (90mm), mettre 2ml de cette concentration + 18ml de MH.

➤ Entérobactéries du groupe 3 :

La concentration de cloxacilline est de 0,3 mg/ml, dans ce cas il faut dissoudre 30mg de cloxacilline dans 10ml d'eau distillée.Pour une boîte ronde (90mm), mettre 2ml de cette concentration + 18ml de MH.

➤ *Pseudomonas aeruginosa* :

La concentration de cloxaciline est de 0,5mg/ml, dans ce cas il faut dissoudre 50mg de cloxaciline dans 10 ml d'eau distillée. Pour une boîte ronde (90mm), mettre 2ml de cette concentration + 18ml de MH.

➤ *Acinetobacter sp* :

La concentration de cloxaciline est de 0,25mg/ml, dans ce cas il faut dissoudre 25mg de cloxaciline dans 10 ml d'eau distillée. Pour une boîte ronde (90mm), mettre 2ml de cette concentration + 18ml de MH.

Recommandations :

Chez *Enterobacter sp*, un disque de cefepime peut être testé à l'antibiogramme (pratiquement toujours actif sur les CHN). L'obtention d'un diamètre réduit avec déformation de la zone d'inhibition, évoque la présence d'une BLSE.

La confirmation est obtenue par le test de l'oxacilline (test du double disque négatif).

Cependant, en cas de très haut niveau de sécrétion de céphalosporinase, il est possible d'utiliser des milieux à 0,5 mg/ml de cloxacilline pour Entérobactéries, 1 mg/ml de cloxacilline pour *Pseudomonas aeruginosa*. En cas d'absence de culture, réaliser

Technique :

L'antibiogramme sera réalisé sur MH additionné de cloxacilline, ensemencé à l'aide d'une suspension bactérienne de 0,5 McF.

On dépose sur la surface gélosée ensemencée les disques antibiotiques (β -lactamines) figurant dans le tableau 1 (entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter sp*).

Incuber 18heures à 35°C.

Interprétation :

Le test à la cloxacilline est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de cloxacilline à celui réalisé sur MH (gardé la veille au frais).

- Restauration complète de l'activité des β -lactamines (phénotype sauvage de l'espèce)
:Présence d'une céphalosporinase.
- Restauration de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération(C3G), des associations β -lactamines + inhibiteurs des β -lactamases sans image de

synergie entre C3G/AMC(entérobactéries), C3G/TCC(*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* sp), mais inactivité des C1G(+/- C2G), des amino et carboxypénicillines : Céphalosporinase hyperproduite+pénicillinase.

- Idem mais avec image synergie «bouchon de Champagne» : BLSE+céphalosporinase.
- ***Pas de restauration, pas d'image de synergie*** : Pénicillinase de haut niveau (BLSE) un rapprochement des disques C3G/AMC, C3G/TCC est à discuter.

3- Recherche de la résistance de *Staphylococcus* sp à l'oxacilline (MRSA) :

1- Test de diffusion du disque de céfoxitine (30µg) :

Pour *Staphylococcus aureus* le disque de céfoxitine 30µg est comparable à celui de l'oxacilline pour détecter la résistance à l'oxacilline par production de PLP2a (gène *MecA*).

En pratique, pour une meilleure détection de la résistance, les disques d'oxacilline (1 µg) et de céfoxitine (30µg) doivent être testés simultanément au niveau de l'antibiogramme standard de *S.aureus*.

Lecture :

La lecture du diamètre d'inhibition doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse.

➤ *Pour Staphylococcus aureus :*

-Si le diamètre de la ce céfoxitine est ≤ 21 mm, la souche est dite résistante à L'oxaciline.

-Si le diamètre de la céfoxitine est ≥ 22 mm, la souche est dite sensible à L'oxaciline..

« Devant tout problème d'interprétation, faire un test de confirmation par la technique du screening à l'oxacilline (Test MRSA).

➤ *Pour Staphylococcus à coagulase négatif :*

-Si le diamètre de la céfoxitine est ≤ 24 mm, la souche est dite résistante à l'oxacilline.

2-Test de screening à l'oxacilline pour *Staphylococcus aureus* :

Devant tout problème d'interprétation du diamètre d'inhibition de la céfoxitine faire un screening test.Ce test concerne uniquement *Staphylococcus aureus*.

Milieu :

-Gélose Muller Hinton additionnée de 4% de Na Cl, et de 6 mg/l d'oxacilline.

-La préparation de la solution d'oxacilline se fait de la manière suivante :

Diluer 6mg d'oxacilline (poudre injectable d'un flacon de 1g) dans 10ml d'eau distillée stérile, puis faire une dilution au dixième. Répartir la solution obtenue à raison de 2ml par tube ; ainsi conditionnées ces solutions peuvent être conservées à -20°C pendant une semaine, au bout de laquelle elles doivent être renouvelées.

-Mettre 2ml de cette solution dans une boîte de 90mm de diamètre, ajouter 18ml de gélose Muller Hinton additionnée de 4% de Na Cl. Mélanger en faisant des mouvements rotatoires.

-Inoculum :

-A partir d'une culture pure de 18H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

-Décharger l'anse dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

-Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5Mc Farland ou à une densité optique de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

-L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

Ensemencement :

-L'ensemencement se fait par spot, en appliquant verticalement sur la gélose l'extrémité d'un écouvillon trempé dans la suspension bactérienne (ou ensemencher un cadran en entier).

-Les souches de référence doivent être testées dans les mêmes conditions. *S. aureus* ATCC 29213 souche sensible à l'oxacilline. *S. aureus* ATCC 43300 souche résistante à l'oxacilline.

Incubation :

24H à 35°C en atmosphère normale.

Lecture :

La lecture de plus d'une colonie de la souche test suffit pour indiquer une résistance à L'oxacilline, indiquant une résistance à toutes les β -lactamines.

**« PROFIL BACTERIOLOGIQUE DES INFECTIONS NOSOCOMIALES AU
SERVICE DE REANIMATION MEDICALE DU CHU ANNABA »**

Summary:

The device associated infection is the first adverse event frequency in the intensive care unit affecting 30% of patients. Epidemiological monitoring is the first step in prevention. Our study aims to:

- Determine the bacteriological profile of nosocomial infection in medical ICU
- Characterize β -Lactamase encoding genes of the clinical isolate

During a period of three years (from 1st January 2009 to 31 December 2011) we realized epidemiological surveillance of NIs, including all patients hospitalized in intensive care CHU Annaba and staying more than 48 hours. Monitoring is targeted and involved three sites in connection with the use of invasive devices, namely acquired pneumonia in mechanically ventilated, urinary tract infections related to the survey and bloodstream infection related or not to central venous catheters. We collected 885 patients, 149 had at least one nosocomial infection during their ICU stay. The incidence of NI is 17% (14 IN/1000 days in the ICU).

The VAP is the most frequent NI in the ICU (67%), they are occurring late after the 5th day of ventilation in 72% of cases. The attack rate is 5.05 IU/1000 survey days and days of catheterization BLC/1000 3.79 for BL-CVC. The Gram negative bacilli are more dominant 87% of strains, *Klebsiella pneumoniae* is the most common with 24.3% of the isolates, followed by *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* respectively 20.8% and 20%. Bacterial resistance to antibiotics in our ICU is alarming, especially for Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii*, 71% of Enterobacteriaceae resistant to C3G with a high percentage of ESBL production, 56% of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* 23.5% of resistant to carbapenems.

43 strains of Enterobacteriaceae have benefited from molecular characterization of ESBL by PCR and sequencing. These sequencing results show a predominance of production of CTX-M-15, 42 strains (99% of 43), followed by TEM-1 occurred in 40 strains (of 43 or %) and SHV ESBLs ranging from several SHV-type were identified in our study namely SHV-60, SHV-1, SHV-28, SHV-11 and SHV-12. Resistance of *Acinetobacter baumannii* to carbapenems is related to the secretion of a type oxacillinase β laoxa-23.

HAIs are responsible for excess mortality 67% vs 32% ($P < 0.0001$) and a longer length of stay 27.8 days vs 8.8 days ($P < 0.0001$). Nosocomial infections in BMR are associated with morbidity and mortality greater than the susceptible bacteria. The main cause of this mortality is inappropriate antibiotic therapy in patients with infection BMR.

These findings underscore the urgency of the implementation and strengthening of preventive strategies on the one hand to limit the spread of these strains by the compliance and enforcement of standards of hygiene precautions, and secondly the reduction of volumes of antibiotics in town and to the hospital with a more rigorous control of the prescription and sale of antibiotics to prevent the spread of new resistance mechanisms.

Keywords: Nosocomial infections, intensive care, gram negative, multidrug resistance, CTX-M-15, TEM-1, OXA-23

« PROFIL BACTERIOLOGIQUE DES INFECTIONS NOSOCOMIALES AU SERVICE DE REANIMATION MEDICALE DU CHU ANNABA »

Résumé :

Introduction :

L'infection nosocomiale est le premier événement indésirable en fréquence en réanimation qui peut affecter 30% des patients. Elle représente un problème de santé publique.

L'objectif principal de notre étude est de déterminer le profil bactériologique des infections nosocomiales.

Les objectifs spécifiques sont :

- Caractériser les gènes de résistance aux β -lactamines des germes isolés afin de connaître les principaux mécanismes de leur dissémination.
- Déterminer les caractéristiques épidémiologiques des IN.

Patients et méthodes : Durant une période de trois années (allant du 1^{er} janvier 2009 au 31 décembre 2011) nous avons réalisé une surveillance épidémiologique des IN, incluant tous les patients hospitalisés en réanimation médicale du CHU Annaba et séjournant plus de 48 heures.

La surveillance est ciblée et a concerné les trois sites en rapport avec l'utilisation de dispositifs invasifs, à savoir les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique, les infections urinaires liées au sondage, et les bactériémies liées ou non au cathéter veineux central.

Résultats :

- Nous avons colligé 885 patients, 149 ont acquis au moins une infection nosocomiale durant leur séjour en réanimation. L'incidence des IN est de 17% (14 IN/1000 jours en réanimation)
- Les PAVM sont les IN les plus fréquentes en réanimation (67%), elles sont tardives survenant après le 5^{ème} jour de ventilation dans 72% des cas. Le taux d'attaque des IUN est de 5,1 IU/1000 jours de sondage et 3,79 BLC/1000 jours de Cathétérisme pour les BL-CVC.
- Les BGN sont les germes les plus dominants soit 87% des souches, *Klebsiella pneumoniae* est le germe le plus fréquent avec 24,3 % des isolats suivi par *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* avec respectivement 20,8 % et 20 %.
- La résistance bactérienne aux antibiotiques dans notre réanimation est alarmante, notamment pour les entérobactéries et les *Acinetobacter baumannii*, 75,6 % des entérobactéries résistent aux C3G avec un pourcentage élevé de production des BLSE, 56 % des *Acinetobacter baumannii* et 23,5 % des *Pseudomonas aeruginosa* résistent aux carbapénèmes.
- 43 souches d'entérobactéries ont bénéficié d'une caractérisation moléculaire de BLSE par PCR puis par séquençage. Les résultats du séquençage montrent une prédominance de production de la **CTX-M-15**, 42 souches (sur 43 soit 99%), suivi des **TEM-1** produites chez 40 souches (sur 43 soit %) et de SHV, plusieurs variant de BLSE de type SHV ont été identifiées dans notre étude à savoir SHV-60, SHV-1, SHV-28, SHV-11 et SHV-12.
- La résistance de l'*Acinetobacter baumannii* aux carbapénèmes est liée à la sécrétion d'une oxacillinase de type *Bla_{oxa-23}*
- Les IN sont responsables **d'une surmortalité 67% vs 32% (P=0,0001)**, un **allongement de la durée de séjour de 19 jours** (27,8 jours vs 8,8 jours (P=0,0001)), et d'un surcoût évalué à **40781460 DA** qui représente **26 %** des dépenses du service réanimation médicale.

Ces résultats soulignent l'urgence de la mise en place et le renforcement de stratégies préventives d'une part visant à limiter la diffusion de ces souches par le respect et l'application des précautions standards d'hygiène, et d'autre part la réduction des volumes des antibiotiques en ville et à l'hôpital avec un contrôle plus rigoureux de la prescription et de la vente des antibiotiques pour éviter la diffusion de nouveaux mécanismes de résistance

Mots clés : infections nosocomiales, réanimation médicale, BGN, multi résistance, CTX-M-15, TEM-1, OXA-23.