

***AU NOM D'ALLAH
LE TOUT PUISSANT ET A SON
PROPHETE MOHAMED (PSL)***

A ma mère

Je te dois l'essentiel de cette réussite

Je suis consciente des énormes sacrifices que tu as consenti sans relâche pour m'éduquer et me permettre de gravir les échelons de notre société.

Ton courage fait de toi, une femme d'une trempe bien rare.

Je te remercie du plus profond de mon cœur, seul le Bon Dieu saura te récompenser.

Prions ensemble pour qu'il te garde encore longtemps auprès de nous.

A mon père

Ta sagesse et ton courage ont toujours été sécurisants pour moi. Tu es aussi un travailleur exemplaire et infatigable.

Avec tes modestes moyens, tu as toujours subvenu à nos besoins.

Tu as rempli pleinement ton rôle de père.

Ta persévérance m'a aidé à ne jamais me décourager.

Que Dieu fasse que je continue à bénéficier longtemps encore de tes conseils

A mon époux Joseph TOURE

Sans toi le reste n'a pas de sens.

Tout pour toi !

Tout avec toi !

Tout grâce à toi !

Pour le meilleur et pour le pire

A mes fils: Mohamed Archou TOURE et Iba TOURE

Seule la rigueur, la volonté et l'honnêteté vous permettront d'éviter les multiples embûches qui se dresseront sur vos chemins, car la route est longue.

Je vous dédie particulièrement ce travail.

Je vous souhaite une longue vie et je prie le Bon Dieu que votre parcours professionnel soit plus facile que le mien.

Que la simplicité et la discrétion soient votre devise.

Vous m'êtes très chers

IN MEMORIUM**A ma grande soeur Rissikatou****A mon grand frère Mohamed El Kebir**

*Je ne vous ai pas connu car très tôt ravis à l'affection de votre famille.
Nous prions pour vous.*

A mon grand frère Mohamed Archou TIDJANI

*Tu étais un bon conseiller pour moi. En ce jour, j'aurai été comblée de
te voir assis à mes côtés, mais Dieu en a décidé autrement.
Que la terre te sois légère.*

A mes frères et sœur:**Souleymane, Ismaël, Bassirou, Adams et Awa, Mohamed El Kebir**

*Je vous remercie de votre soutien moral et matériel tout au long de ces
années.*

Grâce à vous, j'ai toujours eu ce que je voulais.

Je prie le Bon Dieu pour qu'il veille toujours sur vous.

Je vous aime !

A mes neveux et nièces

La route est encore très longue mais je sais que vous y arriverez.

*Je vous souhaite beaucoup de courage et de persévérance dans
toutes vos entreprises.*

Soyez brillants et restez humbles.

Avec amour !

A ma nièce Salimata

Je te considère comme ma sœur.

Merci pour ton soutien !

A ma famille du Bénin et de la Côte d'Ivoire

La distance n'altère pas les sentiments que je vous porte.

Je regrette votre absence en ce jour.

A toute la famille DIOMANDE en Côte d'Ivoire

Je vous remercie pour tout.

A mon beau père Matouré TOURE et ma belle mère Aïda SECK

Je vous considère comme mes parents.

Tous mes remerciements pour votre gentillesse et votre affection à mon égard.

Que vos prières m'accompagnent encore pendant longtemps

A tante THIOYE

Profond respect

A toute la famille TOURE

Merci pour tout

A la famille GUISSÉ

Je vous suis très reconnaissante.

A Evelyne TIDJANI/TALL

Je te considère comme ma sœur.

Les mots ne suffisent pas pour t'exprimer toute ma gratitude.

Merci pour ton soutien inconditionnel

A Catherine DOUPEUX

Trouve ici l'expression de ma reconnaissance profonde pour ta gentillesse et ton dévouement incommensurable à notre égard

A mes belles sœurs:

Mariétou, Constance, Courtney, Poupée, Maty

En reconnaissance de votre attachement et de votre bienveillance

IN MEMORIUM**A ma copine Germaine DA SYLVA**

Tu m'as quitté au moment où j'avais le plus besoin de toi.

Que ton Ame repose en paix !

A mes amis (es)

Didi, Camille, Fadiol, Sira, Assane, Clémence, Lat, Astou, François, Constance

En témoignage de l'amitié qui nous lie

A ma tante Agnès DIOP et enfants

Sois ici remerciée, pour ton amour et tes nombreuses prières formulées
à notre égard.

IN MEMORIUM**A mon oncle YAya DANKARATOU**

Pensées pieuses

A la famille DANKARATOU

Ce travail est le vôtre

**Aux familles de la Sicap: DA SYLVA, MENDY, Adama DIOP, CISSE,
DIOP, NDAO, DIOR-NDIAYE**

Merci pour votre soutien

A toute la famille Aminou BELLO**A toute la famille Ismaïla BELLO****A toute la famille TALL****A toute la famille FAYE****A toute la famille BONNAIRE****A toute la famille DIA****A toute la famille HARRIS****A toute la famille BOMBOTE****A toute la famille DIOH****A toute la famille PETON**

Merci pour toutes vos prières

A mes promotionnaires

**Béatrice, Genéviève, Anna, Mado, Oumou, Nafi, Ami TOURE,
Henriette, Bousso, Marie, Pape Abdoulaye, Lakhat, Mara**

(la liste n'est pas exhaustive)

Pour ces longues années passées ensemble

REMERCIEMENTS

A Tout le Laboratoire de Bactériologie-Virologie, en particulier
Assane FAYE et Leyfou DABO, Papaa Usmaan JAAW

A tout le personnel de la Maternité

A Rosine

A Maurice DIOUF du Laboratoire de Biophysique

A Rose DIENE du Laboratoire de Chimie Analytique
Toute ma gratitude

A notre Maître et Président de Jury

MONSIEUR LE PROFESSEUR FADEL DIADHIOU

vous nous faites l'honneur et l'immense plaisir en acceptant de présider cette thèse.

Vous modestie, votre humilité et le respect que vous portez aux gens vous valent l'admiration de Tous.

Merci de nous avoir faciliter le travail dans votre service

Puisse ce travail être pour nous l'occasion de vous exprimer notre profonde gratitude et notre sincère reconnaissance.

A notre Maître et Juge

MONSIEUR LE PROFESSEUR DOUDOU BA

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail.

Vous nous avez toujours accueilli avec bienveillance et sympathie

Votre compétence et vos qualités humaines dont vous faites preuve à l'égard de tous, font de vous un exemple.

Soyez remercié d'être aujourd'hui parmi nous.

A notre Maître et Juge

MONSIEUR LE PROFESSEUR SOULEYMANE MBOUP

Nous ne vous connaissons pas particulièrement, mais votre disponibilité, votre spontanéité, votre modestie, nous serons inoubliable.

Nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Trouvez l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Juge

MONSIEUR MAMADOU BADIANE MAÎTRE DE CONFÉRENCE AGRÉGÉ

Nous avons été touché par la spontanéité par laquelle vous avez accepté de juger notre travail, malgré vos multiples occupations. C'est un grand honneur pour nous de vous compter parmi nos juges. Nous avons su apprécier, l'aide précieuse et bienveillante que vous nous avez apportée pendant ces longues années d'étude. Nous vous remercions pour votre disponibilité.

A notre Maître et Directeur de Thèse

MONSIEUR CHEIKH SAAD BOUH BOÏE MAÎTRE DE CONFÉRENCE AGRÉGÉ

Vous nous avez initié à la Bactériologie et vous avez conduit ce travail avec beaucoup d'intérêt. vous avez su nous mettre à l'aise dans votre service. Votre enseignement très riche d'expérience, de rigueur, de clarté, votre humilité font de vous une personne que nous admirons. Nous avons eu en face de nous, non seulement un Maître, mais aussi un ami. Nous espérons ne pas vous avoir déçu

ABBREVIATIONS

Gram (+)	Gram positif
Gram (-)	Gram négatif
DNA =	Acide Decory Ribonucleique
RNA =	Acide Ribonuicleique
Il =	Interleukine
INF	Tumor Necrosis Factor
IFNG	Interferon Gamma
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
Ag	Antigène
Ac	Anticorps
β - lactamine	Bétalactamines
ATB	Antibiotiques
S. aureus	Staphylococcus aureus
K. pneumoniae	Klebsiella pneumoniae
PLP	Protéines de liaison de la Penicilline
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
HNR	Haut niveau de Résistance
MLSB	Macrolides Lincosamides Streptogramines
ONPG	Ortho Nitro Phenyl Pyrano Galactoside
ABG	Antibiogramme
C1G	Cephalosporinesde 1 ^{ère} génération
C2G	Cephalosporines de 2 ^{ème} génération
C3G	Cephalosporines de 3 ^{ème} génération

Plan

INTRODUCTION.....	14
-------------------	----

1^{ère} Partie : Généralités sur les infections nosocomiales d'origine bactériennes

I. EPIDEMIOLOGIE.....	15
1.1. DEFINITION	15
1.2 LES AGENTS RESPONSABLES ET LES FACTEURS DE RISQUES.....	15
1.2.1 Les agents responsables.....	15
1.2.2 Les facteurs de risques.....	16
1.2.2.1- Les facteurs Antibiothérapeutiques.....	16
1.2.2.2- Les Autres portes d'entrée.....	16
1.3-. LES MODES DE TRANSMISSION.....	17
1.3.1 La transmission aérienne.....	17
1.3.2 La transmission par contact.....	18
1.3.2.1- Le Manuportage.....	18
1.3.2.2- Le Matériel Médical.....	18
1.3.2.3- Le Malade.....	18
1.3.2.4- Les Visiteurs.....	18
1.4 LES PRINCIPALES INFECTIONS.....	19
II- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUES	19
2.1. LES PRODUITS PATHOLOGIQUES	19
2.1.1. Généralités sur les produits pathologiques.....	19
2.1.1.1-Définition	19
2.1.1.2- Les Règles Générales de l'examen Bactériologique des Produits Pathologiques.....	21
2.1.1.3- Les Résultats	22
2.1.2. Les produits pathologiques étudiés.....	22
2.1.2.1- Les Urines	22
2.1.2.2- Le Sang	25
2.1.2.3- Les Pus	26
2.2- LES GERMES DE L'ATMOSPHERE	27
2.3- LE MANUPORTAGE ET LE MATERIEL MEDICAL	28
2.4. PHENOTYPAGE CARACTERISATION DES SOUCHES	28
2.4.1- Antibiotypie.....	28
2.4.1.1-Antibiogramme	28
2.4.1.2- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	29
2.4.2- Sérotypie	29
2.4.3- Biotypie	29
2.4.4- Lysotypie.....	30
2.4.5- Bactériocinotypie.....	30
2.4.6- Plasmides de résistance	30
2.4.7- Ribotypie.....	31
2.4.8- Toxinotypie	31
2.4.9- Zymotypie	31
2.4.10- Pulsotypie	31
2.5- METHODES INDIRECTES DE DIAGNOSTIC : METHODES SEROIMMUNOLOGIQUES.....	32
2.5.1- Dosage des cytokines de l'inflammation IL1 IL6, TNF α , IFN γ	32
2.5.2.1- Réactions d'Immunofluorescence.....	33

2.5.2.2- Réaction de Fixation du Complément	33
2.5.2.3- Hémagglutination Passive	33
2.5.2.4- Réactions de Précipitation.....	33
2.5.2.5- Réaction Immuno Enzymatique = TECHNIQUE ELISA.....	34
III- PLACE DES ANTIBIOTIQUES DANS LES INFECTIONS NOSOCOMIALES EN GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	35
3.1- GENERALITES SUR L'EVOLUTION DE LA CHIMIOThERAPIE	35
3.1.1- Définition de la chimiothérapie	35
3.1.2- Historique	35
3.2- CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES	38
3.2.1- Classification basée sur l'origine	38
3.2.1.1- Origine Fongique	38
3.2.1.2- Origine Bactérienne: BACILLUS	39
3.2.1.3- Antibiotiques de Synthèse.....	39
3.2.2- Classification basée sur les propriétés bactériostatique et bactéricide	39
3.2.2.1- Les Antibiotiques Bactériostatiques.....	39
3.2.2.2- Antibiotiques Bactéricides	40
3.3- Résistance des bactéries aux antibiotiques.....	40
3.3.1- Types de résistances.....	41
3.3.1.1- Résistance acquise par mutation chromosomique.....	41
3.3.1.2- Résistance plasmique	42
3.3.2- CAS PARTICULIERS	43
3.3.2.1- Résistance aux Bêta Lactamines	43
3.3.2.2- Résistance aux aminosides	44
3.3.2.3- Résistance aux macrolides, lincosamides , streptogramines	46
3.3.2.4- Résistance aux Quinolones.....	47
3.3.2.5- Résistance aux Tétracyclines	47
3.3.2.6- Résistance aux Phénicolés	48
3.3.2.7- Résistance vis à vis des Sulfamides et du Triméthoprim	48
3.3.2.8- Résistance à la Vancomycine.....	49
3.3.2.9- Méthicillinorésistance (oxacilline et dérivés)	50
3.4- CHOIX D'UN ANTIBIOTIQUES : LES MODALITES	51
3.4.1- Le site infectieux	51
3.4.2 La bactérie et sa sensibilité.....	51
3.4.3 Le terrain sous- jacent =hôte.....	51
3.4.4 Quelques définitions de pharmacocinetique	52
3.4.4.1. La Biodisponibilité	52
3.4.4.2. Aire sous la courbe	52
3.4.4.3. Demi-vie d'élimination	52
3.4.4.4. Fixation Protéique	52
3.4.4.5. Volume de Distribution	53
3.4.4.6. Effet de Premier Passage	53
3.4.4.7. Quotient Inhibiteur	53

2^{ème} Partie : Travail Personnel

CADRE DE L'ETUDE	55
1 1. MATERNITE DE L'HALD	55
1.2- LE LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE DE L'H.A.L.D.	55
II- MATERIELS ET METHODES	56
2.1- MATERIELS	56
2.1.1- <i>Matériels de prélèvement</i>	56
2.1.2- <i>Matériels utilisés pour des prélèvements</i>	56
2.1.2.1- Matériels d'isolement.....	56
2.1.2.2- Matériels d'identification.....	57
2.1.2.3 Matériels pour l'antibiogramme.....	58
2.1.2.4 Appareils et autres matériels.....	58
2.1.2.5 Résistance enzymatique.....	58
2.2- METHODES.....	59
2.2.1- <i>Méthodes de prélèvement des produits pathologiques et isolement des germes</i>	59
2.2.1.1- Les urines	59
2.2.1.2- Le Sang	60
2.2.1.3- Le pus.....	61
2.2.2- <i>Méthode de prélèvement et d'isolement des germes de l'atmosphère</i>	63
2.2.3- <i>Méthode de prélèvement et d'isolement des germes au niveau des mains du personnel et du matériel médical</i>	63
2.2.4- <i>Identification des germes isolés chez les malades</i>	64
2.2.5- <i>Sensibilité aux antibiotiques</i>	71
2.2.5.1- Antibiogramme	71
2.2.5.2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI par la méthode du E-Test (Epsillometer-Test).....	72
2.2.5.3- Mise en évidence de Béta-lactamase à spectre élargi ou étendu (BSE).....	72
2.2.5.4- Recherche de la Méthicillino résistance.....	73
II.3- INTERPRETATION DES RESULTATS PAR LE WHONET IV	74
RESULTATS ET COMMENTAIRES	75
I REPARTITION DES SOUCHES EN PROVENANCE DE LA MATERNITE (MALADES, ATMOSPHERE, MANUPORTAGE)	75
II- REPARTITION DES SOUCHES EN FONCTION DES ESPECES	75
2.1- REPARTITION DES SOUCHES DES MALADES	75
2.1.1- <i>Répartition globale</i>	75
2.1.2- <i>Répartition par produit pathologique</i>	77
2.2- REPARTITION DES SOUCHES DE L' ATMOSPHERE.....	78
2.3- REPARTITION DES SOUCHES DU MANUPORTAGE	78
III- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES.....	79
3.1- PROFIL DE SENSIBILITE PAR L' ANTI BIOGRAMME DES PRINCIPAUX GERMES ISOLES DES MALADES.....	79
3.1.1- <i>Sensibilité des souches d'Escherichia coli</i>	79
3.1.2- <i>Sensibilité des souches de Klebsiella pneumoniae</i>	79
3.1.3- <i>Sensibilité des souches de Staphylocoque</i>	82
3.1.4- <i>Sensibilité des souches de Streptocoques</i>	82
3.1.5- <i>Sensibilité des souches d'Enterobacter</i>	86
3.1.6- <i>Sensibilité des souches de Proteus</i>	86

3.1.7- Sensibilité des souches de <i>Morganella Morganii</i>	90
3.1.8- Sensibilité des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	92
3.2- PROFIL DE SENSIBILITE DES GERMES DU MANUPORTAGE	94
3.2.1- <i>Staphylocoques</i>	94
3.2.2- <i>Streptocoques</i>	94
3.3- Sensibilité aux antibiotiques par la méthode du E-Test	95
3.3.1- Les souches d' <i>Escherichia coli</i>	95
3.3.1.1- Dans le sang	95
3.3.1.2- Dans les urines	96
3.3.2- Les souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	101
3.3.3- Les souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	102
3.3.4- Les souches d' <i>Enterobacter</i>	102
DISCUSSION	103
I. SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES GERMES ISOLEES CHEZ LES MALADES	103
1.1- SENSIBILITE DES BACILLES GRAM NEGATIF LES PLUS FREQUEMMENT ISOLEES	103
1.1.1- <i>Escherichia COLI</i>	103
1.1.2- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	105
1.1.3- Les <i>Enterobacter</i>	107
1.1.4- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	107
1.2- SENSIBILITE DES COCCI GRAM (+)	108
1.2.1- <i>Staphylococcus aureus</i>	108
1.2.2- <i>Streptocouques</i>	108
RECOMMANDATIONS.....	109
I- LES CONDITIONS D'HYGIENE.....	109
1.1- LE PERSONNEL HOSPITALIER	109
1.2- LES VISITEURS	109
1.3- LE MALADE	110
1.4- L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER	110
II- LA CHIMIOPROPHYLAXIE	110
III- INSTALLATION D'UN COMITE DE LUTTE CONTRE LES INFECTIONS NOSOCOMIALES.....	110
IV- L'ANTIBIOTHERAPIE	111
4.1- L'ANTIBIOPROPHYLAXIE	111
4.2- L'ANTIBIOTHERAPIE CURATIVE.....	111
4.2.1- <i>Thérapeutiques des infections dues aux bacilles Gram négatif (Escherichia coli , Klebsiella pneumoniae, Proteus, Enterobacter, Pseudomonas aeruginosa)</i>	112
4.2.2- <i>Thérapeutiques des infections dues aux cocci à Gram positif (Staphylococcus aureus, Streptocoques)</i>	112
CONCLUSION.....	114
BIBLIOGRAPHIE	116

INTRODUCTION

Les infections nosocomiales "Maladies hospitalières", prennent une part de plus en plus importante dans les problèmes de santé publique, notamment dans nos pays, dans lesquels les moyens prophylactiques et thérapeutiques font défaut, faute de moyens financiers, l'Organisation Mondiale de la Santé, estimant à 2 milliards de dollars environ le coût médical hospitalier engendré par ces infections à travers le monde (8), mais également dû au fait que les cliniciens ne tiennent pas compte de certains facteurs avant d'établir un protocole thérapeutique ou prophylactique.

Ces infections, par leur fréquence et leur gravité, ont permis aux statistiques d'affirmer qu'au moins 5 % des personnes hospitalisées vont présenter des infections (32).

HALEY et COLL dénombrent, en 1975-1976, dans 6449 hôpitaux et cliniques Américains 2.148.485 cas d'infections nosocomiales, soient 5,69% des hospitalisations (26) et depuis quelques années ont été apportées des données concernant l'écologie (45), l'épidémiologie (64), la pathologie des formes cliniques, le dimorphisme des bactéries responsables, la réponse immunologique à l'agression bactérienne.

Nous sommes intéressés par la prévalence et la gravité de ces infections nosocomiales en gynécologie obstétricale et en néonatalogie, et, dans le cadre de cette étude, nous allons établir des protocoles d'antibioprophylaxie et d'antibiothérapie sur la période de 1997 au 1er trimestre 1998 en tenant compte de plusieurs facteurs, à savoir:

- La Bactérie
- l'hôte
- l'environnement
- la sensibilité bactérienne
- la pharmacocinétique de l'antibiotique
- le coût

Ainsi cette étude se déroulera de la manière suivante :

Dans une première partie on parlera :

- des généralités sur les infections nosocomiales
- de la place des Antibiotiques en gynécologie obstétricale et en néonatalogie.

Dans la seconde partie, il s'agira de notre travail personnel.

I. EPIDEMIOLOGIE

1.1. Définition

Une infection nosocomiale est une infection contractée à l'hôpital (35) incluant une infection survenant après la sortie. Cette infection n'est ni présente, ni en phase d'incubation au moment de l'admission du patient à l'hôpital (28, 23) et qui apparaît avec un délai d'au moins 48 heures après l'admission du malade à l'hôpital (34).

Concernant les infections de la plaie opératoire, sont considérées comme nosocomiales les infections survenant dans les 30 jours suivant l'intervention (34).

Que faut-il entendre par infection ? Il s'agit d'une prolifération microbienne ayant pour conséquence des réactions ou lésions cellulaires, tissulaires ou génétiques, se traduisant le plus souvent par un syndrome inflammatoire (35). La victime peut être non seulement le malade, mais également le personnel hospitalier, les accompagnants et ceux qui viennent en consultation.

Ces infections peuvent être endogènes = auto-induction et, dans ce cas, elles sont causées par des organismes présents dans la flore normale du patient . Elles peuvent être exogènes = xénoinfection causées par des organismes acquis par contact avec la personnel soignant, les appareils médicaux et l'environnement hospitalier (37, 38).

1.2 Les agents responsables et les facteurs de risques

1.2.1 Les agents responsables

L'hôpital est un milieu où règne un va et vient de toute personne confondue (âge, race, sexe), d'où une prolifération accrue des germes microbiens dans l'atmosphère hospitalier qui attaquent avec prédilection les sujets Immuno déficients.

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

Les principaux germes rencontrés sont les suivants:

- Les Cocci Gram positif constitués par les staphylocoques, qui sont des

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

Ce groupe des cocci Gram positif est également constitué par les *STREPTOCOQUES* qui sont ubiquitaires.

- Les Bacilles Gram négatif parmi lesquels les plus rencontrés sont :

. Les *Klebsielles* notamment *Klebsiella pneumoniae*

. *Escherichia coli*

Au second plan nous avons les *Enterobacter*, les *Proteus*, les *Pseudomonas*.

Ces *Entérobactéries* sont retrouvées au niveau du tube digestif, mais cette niche écologique n'est pas exclusive, car on peut la retrouver dans le milieu extérieur (eau, sol, air)

NB Les *Pseudomonas* sont très rares dans l'atmosphère.

1.2.2 Les facteurs de risques

La fréquence des infections nosocomiales peut s'expliquer par certains facteurs que l'on peut classer de la manière suivante :

1.2.2.1- Les facteurs Antibiothérapeutiques

En effet, le développement de l'antibiothérapie et surtout son maniement inadéquat jouent un rôle prépondérant dans la survenue des infections nosocomiales.

Les Antibiotiques favorisent l'infection secondaire, notamment les Céphalosporines qui sont des Antibiotiques à large spectre . En effet, ils peuvent entraîner une rupture de l'équilibre physiologique de la flore microbienne en inhibant la multiplication de certains germes au profit d'autres souches susceptibles de jouer un rôle pathogène.

1.2.2.2- Les Autres portes d'entrée

- Les facteurs liés à la chirurgie

La découverte de la chirurgie a permis d'allonger la durée de vie des individus, mais, dans certains cas, elle peut la raccourcir.

Le facteur le plus important est la durée de l'intervention, plus elle est longue, plus les risques d'infection sont élevés.

Mais il y a également la stérilité des instruments utilisés (gants, cathéters, sondes, ciseaux, Bistouri, aiguilles, seringues, solutions).

Il faut noter que le maintien de la stérilité ne peut se faire à 100 %.

Si on prend, par exemple, le cas des gants; tant qu'ils sont dans la boîte ils sont stériles, mais une fois la boîte ouverte, la stérilité ne peut plus être garantie, parce que même la stérilité du bloc opératoire n'est pas évidente.

Il y a également les blouses, notamment celles à manches longues qui peuvent se tâcher de sang car, n'étant pas recouvertes par les gants, s'humidifient, et, de ce fait, deviennent perméables et donc favorisent la prolifération des germes, d'où l'hypothèse d'utiliser des gants de type obstétrical à poignets longs ou encore des manches de coton imperméables (14).

- Les facteurs liés aux malades

* Les immunodéprimés

* Les enfants

* Les vieillards constituent des terrains favorables.

- Les facteurs généraux

* Le Ménage mal fait

* Le Mauvais usage des produits nettoyants et désinfectants.

* La Désinfection insuffisante

* La Mauvaise organisation des circuits de distribution du matériel propre et d'élimination du matériel sale.

* L'entassement des malades

* La longue durée d'hospitalisation.

1.3.- Les modes de transmission

On distingue 2 types

- La transmission aérienne

- La transmission par contact

1.3.1 La transmission aérienne

On parle encore d'exoinfection

L'air héberge des germes saprophytes qui deviennent virulents dans le milieu hospitalier avec l'utilisation massive des antimicrobiens.

Les germes aériens se fixent sur les poussières et les grosses particules qui,

en atmosphère libre, présentent toujours une large gangue de germes saprophytes solidement absorbés à la surface (38).

Les gouttelettes de flügge qui sont des gouttelettes rhino-pharyngées émises par l'homme peuvent également se dessécher, réalisant les "droplets nuclei" susceptibles de rester en suspension et de transporter les germes infectieux vivants.

Ainsi, l'infection qui sévit dans les blocs opératoires et dans les salles des malades, peut se transmettre par voie aérienne (14).

1.3.2 La transmission par contact

Elle peut se faire par l'intermédiaire des mains du personnel, du matériel médical, des malades eux même ou des visiteurs (21)

1.3.2.1- Le Manuportage

Le personnel, notamment le chirurgien peut contaminer les malades en effectuant des actes médicaux, soient par les mains sales, soient pas ses gants (21).

1.3.2.2- Le Matériel Médical

Mal nettoyé, mal stérilisé il peut héberger des germes susceptibles de contaminer les malades.

L'agressivité des thérapeutiques constitue des portes d'entrée souvent mal protégées : actes chirurgicaux, et, plus encore, les actes de petites chirurgie souvent réalisés avec moins de précaution : perfusions, cathétérismes, sondages (34).

NB: Les instruments chirurgicaux placés sur les tables deviennent souillés dans les 4 mn qui suivent l'extraction de leur enveloppe, quelles que soient les précautions prises (38).

1.3.2.3- Le Malade

Tout entrant à l'hôpital est porteur de ses propres flores composées de germes commensaux, parasites et éventuellement pathogènes (34). Il peut donc contaminer les autres malades et le personnel soignant.

1.3.2.4- Les Visiteurs

Ils peuvent aussi contaminer les malades et, en retour, transmettre au milieu extra hospitalier des germes de la flore d'hôpital (16).

1.4 Les principales infections

Nous avons diverses formes. Des études statistiques très poussées réalisées aux USA (Senic projet) ont montré que 80 % des infections nosocomiales sont représentées par (2):

- Les infections urinaires: 42 %
- Les infections des plaies opératoires: 23 %
- Les infections Broncho-pneumopatique: 10 %
- Les Bactériémies: 5 %
- Les autres formes d'infections 10-15 %.

II- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Le Diagnostic Bactériologique permet de mieux cerner l'épidémiologie des infections nosocomiales, afin de mieux adapter l'antibioprophylaxie et l'antibiothérapie et ceci par une bonne connaissance des germes.

Ce Diagnostic consistera à un isolement et à une identification des bactéries au niveau de divers prélèvements, à savoir:

- les produits pathologiques
- les germes de l'atmosphère
- le manuportage et le matériel médical

2.1. Les produits pathologiques

2.1.1. Généralités sur les produits pathologiques

2.1.1.1-Définition

Ce sont des produits Biologiques où se sont multipliés des Micro-organismes responsables de l'infection.

Classiquement, on distingue deux types de produits pathologiques :

- Monomicrobiens
- Polymicrobiens

↳ Les Produits Monomicrobiens

Ce sont des Produits Biologiques originaires d'une cavité naturelle, qui est stérile à l'état normal, car n'ayant aucun contact avec l'extérieur .

Ce sont des produits que l'on prélève à l'aide d'une aiguille ou de tout autre matériel de Ponction.

Comme exemple nous pouvons citer: le liquide Céphalorachidien, le sang, liquides pleuraux, liquides d'arthrite, liquides péricardiques.

En général on isole qu'une seule Bactérie responsable de l'infection

↳ *Les produits Polymicrobiens*

Ils sont issus de cavités naturelles qui sont normalement septiques.

Ce sont des produits riches en germes ou en produits contaminés par des germes lors de leur élimination dans le milieu extérieur. Cette contamination survient lors de l'émission dans le milieu extérieur par des voies naturelles septiques.

Exemples de produits Polymicrobiens: selles, sécrétions Buccales, vaginales, Rhino pharyngées, pus d'abcès fistulisés, urines.

Pour ces produits pathologiques les techniques utilisées pour isoler les germes causals et l'interprétation des résultats vont différer selon qu'il s'agisse de produits Monomicrobiens ou Polymicrobiens.

L'interprétation des résultats qui sont obtenus après l'étude d'un produit pathologique polymicrobien passe nécessairement par la connaissance de la flore commensale du milieu où le prélèvement a été effectué, et c'est sous réserve de parfaites conditions d'asepsie au cours des Manipulations, que l'isolement d'un germe étranger à la flore, amène à suspecter sa responsabilité dans le processus infectieux en cours.

Pour les produits Monocrobiens, sous réserve également des conditions d'asepsie durant la manipulation, tout germe isolé de ces produits est suspect de l'infection.

2.1.1.2- Les Règles Générales de l'examen Bactériologique des Produits Pathologiques

↳ Les Prélèvements

Les Prélèvements doivent être effectués avant toute antibiothérapie, et dans des conditions strictes d'asepsie.

Le détail des techniques de prélèvements (cf chapitre Matériel et Méthode), va varier en fonction du produit pathologique, et il faut envoyer le prélèvement au laboratoire avec des renseignements succincts sur le malade et son état clinique.

Il est important de toujours insister sur la qualité du prélèvement, car elle va conditionner toute la suite de l'examen.

On dit qu'avec de bons prélèvements, on obtient de bons résultats.

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

↳ Transport et conservation

En règle générale, il faut effectuer les prélèvements au Laboratoire, ou les y acheminer dans les meilleurs délais possibles.

Si les délais d'acheminement sont longs, il faudra alors utiliser des milieux de transport qui vont assurer la survie des germes sans provoquer de multiplication.

Si cet acheminement n'est pas possible, il faudra alors conserver les prélèvements, mais dans des conditions qui sont spécifiques à chaque type de prélèvement.

Par exemple, si on veut conserver des urines, il faut le faire à + 4°C. Cette conservation va permettre d'éviter toute altération du produit pathologique jusqu'à son arrivée au laboratoire.

↳ Les Règles Générales Concernant l'Analyse Bactériologique

Une analyse Bactériologique ne doit pas se résumer à une simple technique, mais doit être orienté selon la demande du clinicien et selon les renseignements cliniques qui accompagnent le prélèvement.

Cette orientation également exige dans de nombreux cas de réaliser un examen direct avant la mise en culture, et l'examen direct est une des meilleures techniques rapides de Diagnostic.

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

L'examen direct place la recherche Bactériologique dans son complexe Cytologique.

On procède ensuite à la Mise en Culture qui se fera en fonction des décisions d'orientation. Généralement on évite dans la mesure du possible l'usage trop facile des milieux sélectifs. En fonction des données recueillies au niveau de la culture, sera décidée la suite à donner à l'examen.

En règle générale, il faut toujours éviter d'identifier des bactéries de souillure ou de donner un antibiogramme inadéquat qui représente une incitation à la mise en œuvre d'une antibiothérapie.

2.1.1.3- Les Résultats

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

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

D'abord on communique l'examen Macroscopique et les résultats de l'examen Microscopique sur le plan Bactériologique et Cytologique.

Dans un second temps, on rend les résultats de la culture; le tout sera sommé par les résultats de l'antibiogramme.

2.1.2. Les produits pathologiques étudiés

2.1.2.1- Les Urines

↳ Physiopathologie

L'analyse qui permet de faire le diagnostic Biologique de l'infection urinaire est appelé Examen Cytobactériologique des urines = ECBU.

Le terme d'infection urinaire est impropre, il s'agit en fait d'infection des voies urinaires et on parle alors d'ITU = Infection du Tractus Urinaire.

Le plus souvent cette ITU se fait par voie Ascendante; elle se produit alors à partir de la flore fécale ou Périnéale; elle est, de ce fait plus fréquente chez la femme.

Dans ce cas, elle résulte d'une déficience du mécanisme auto épurateur normal.

Une ITU par voie descendante ou hématogène est possible mais rare.

L'ITU peut être aussi Iatrogène par introduction de germes lors du Cathétérisme.

Les complications des ITU sont les septicémies ou Néphrite.

⇒ Conduite de l'ECBU

Après le prélèvement des urines qui conditionne la qualité de l'ECBU et qui se fait selon plusieurs Techniques (cf Matériel et Méthode) à savoir :

- Le prélèvement naturel physiologique quand le sujet est coopératif
- Le sondage vésical quand le sujet est non coopératif
- Le Prélèvement chez l'enfant
- Le prélèvement chez les porteurs de sonde à demeure
- La ponction sous Pelvienne

L'ECBU se poursuivra de la manière suivante :

* l'Examen Macroscopique: qui nous renseigne sur les caractères organoleptiques de l'urine.

L'urine normale est jaune pâle, limpide. Cet examen macroscopique n'a qu'une valeur d'orientation, certains Biologistes ne lui trouvent aucun intérêt.

* L'examen Microscopique

Il comprend 2 volets :

Un volet Cytologique qui est d'abord quantitatif: la numération se fera sur les urines totales à l'aide d'une cellule genre MALASSEZ.

Le Résultat est exprimé en leucocytes ou hématies/mm³.

Qualitativement l'examen se fera sur le culot de centrifugation des urines.

Les cellules qu'on pourra rencontrer sont :

- les hématies
- les polynucléaires
- les lymphocytes
- les cellules rénales rondes
- les cellules vésicales en raquette
- les cellules endothéliales
- *Trichomonas vaginalis*
- spermatozoïdes
- des levures
- des cristaux
- des cylindres

Un volet bactériologique

Il est qualitatif et se pratiquera sur le culot de centrifugation. La coloration de Gram déterminera :

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

* L'Uroculture

Elle est quantitative et qualitative.

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

⇒ *Le Dénombrement: DGU*

DGU = le dénombrement des germes urinaires

Les différentes techniques utilisées sont certaines décrites dans le chapitre:

- la méthode originale de KASS (42)
- la méthode simplifiée de VERON (42)
- la technique des Anses calibrées
- la technique de la lame imagée
- les appareils automatiques

⇒ *La bactériologie qualitative*

Permet l'identification de la ou les bactéries et l'élimination des bactéries de souillure.

2.1.2.2- *Le Sang*

↳ *Physiopathologie*

Le sang est prélevé pour réaliser des hémocultures, ces dernières étant généralement réalisées devant toute fièvre non expliquée et devant tout syndrome clinique évocateur, même quand la fièvre est isolée.

Elle sont également faites dans des cas d'hypothermies qui peuvent signifier des septicémies à Gram négatif qui traduisent un état infectieux particulièrement sévère.

Il y a deux mots qu'on différencie :

- * La bactériémie: passage transitoire et bénin des bactéries dans le sang.
- * La septicémie bactériémie accompagnée d'un syndrome infectieux généralisé et sévère.

Plusieurs types de septicémies peuvent être rencontrées.

❖ **Les septicémies néonatales**

Le fœtus et le nouveau né peuvent contracter une infection qui sera facilement généralisée par leur fait que leur système immunitaire n'est pas très développé.

Cette infection peut intervenir au moment de l'accouchement pour le nouveau-né, ou in utero par l'intermédiaire du système vasculaire placentaire pour le fœtus.

❖ **Les septicémies par effraction**

Les bactéries peuvent pénétrer dans le système circulatoire et provoquer une septicémie si les défenses immunitaires du malade sont très faibles.

La contamination peut se faire à partir des plaies, des endoscopies, des cathéters, des sondes à demeure, etc.

❖ Les septicémies d'origine thrombo embolique

Ce sont les formes les plus fréquemment rencontrées en milieu hospitalier, mais également en milieu extra hospitalier, comme complication de nombreuses maladies infectieuses (infections respiratoires et urinaires).

L'hémoculture est un acte qui doit être réalisé dans des conditions particulièrement strictes pour éviter la contamination du prélèvement par les bactéries de l'environnement du malade ou du manipulateur. On dit que l'hémoculture est un véritable acte chirurgical.

↳ *L'Examen Bactériologique*

Il repose sur un examen Macroscopique quotidien des ballons d'hémoculture, et également sur un examen Microscopique.

L'examen macroscopique, en cas de positivité, va montrer un trouble du liquide avec parfois une hémolyse du culot hématique qui s'est déposé au fond du tube. Ce trouble est très évocateur.

Les souches identifiées après interprétation sont soumises à un antibiogramme.

2.1.2.3- *Les Pus*

↳ *Physiopathologie*

Sous ce terme de pus, on considère les prélèvements de produits pathologiques hétérogènes, provenant d'infections de localisations différentes et mettant en cause de nombreux agents infectieux.

Ces infections peuvent être classées en trois rubriques:

- * pus provenant d'infections superficielles: escarres, brûlures, plaies traumatiques et chirurgicales

- * pus provenant des infections profondes : abcès sous cutanés ou viscéraux, adénites etc.

- * pus provenant des infections des séreuses: infections de la plèvre, du péritoine, des articulations, du péricarde

↳ Examen Bactériologique

Il comprend plusieurs étapes:

* L'examen macroscopique

Il permet de noter:

- la consistance du produit
- la couleur
- l'aspect sanglant
- l'odeur
- la présence de grains

* L'examen microscopique

Cet examen permet:

- de déterminer la cytologie
- de rechercher la présence des bactéries en particulier:
 - leur abondance
 - la diversité
 - la prédominance d'une espèce

Il faut réaliser pour cela une coloration au Gram, mais également la coloration de ZIELH NIELSEN pour tout pus amicrobien.

* L'ensemencement

On ensemence une gamme de milieux en fonction des résultats de l'examen microscopique.

Quand l'examen direct est négatif, on ensemence des milieux enrichis. Les colonies qui sont apparues sur les milieux d'isolement sont d'abord purifiées et ensuite identifiées avant de les soumettre à un antibiogramme.

2.2- Les germes de l'atmosphère (17)

Les prélèvements des germes de l'atmosphère ne sont pas de réalisation courante, mais représentent une place importante pour le diagnostic, la prévention, et le traitement des infections nosocomiales.

La méthode la plus couramment utilisée est la méthode d'ensemencement en boîte de pétrie; méthode simple ne nécessitant aucun matériel spécial.

Mais étant donné que la taille des particules en milieu hospitalier varie de 10 à 15 μm (18), ainsi les colonies présentes dans les boîtes de pétrie ne permettent pas de faire une appréciation globale de tous les germes présents dans l'air ambiant, d'où la nécessité d'utiliser des techniques de prélèvement plus sophistiquées dites technique volumétrique qui permettent de dénombrer l'ensemble des bactéries.

2.3- Le manuportage et le matériel médical

Les prélèvements sur le personnel hospitalier ainsi que sur les cathéters portant la mention "stérile" sont effectués lors d'enquêtes et de programmes de contrôle (42).

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

Tous les germes isolés, aussi bien dans les produits pathologiques, que dans l'atmosphère, le manuportage et le matériel médical, seront identifiés par des caractères biologiques qui sont ceux effectués en routine au laboratoire, mais il existe un ensemble d'examen permettant une meilleure identification de la souche bactérienne, parmi ces examens, nous avons l'antibiogramme: on parle de phénotypage.

2.4. Phénotypage caractérisation des souches

2.4.1- Antibiotypie

Elle permet la détermination de la sensibilité des germes aux antimicrobiens.

L'étude des profils de sensibilité se fera par deux principales méthodes:

- la méthode de diffusion en milieu gélose: antibiogramme standard
- la détermination de la concentration minimale inhibitrice.

2.4.1.1-Antibiogramme

Il apprécie la modification de la croissance d'une souche bactérienne en présence d'antibiotique, la croissance bactérienne se traduisant par la variation de paramètres divers quantifiables.

Il permet de classer la bactérie selon trois profils :

- sensible
- intermédiaire
- résistance

L'Antibiogramme constitue l'étape ultime de l'examen cyto-bactériologique, mais également le plus important, car il permet d'établir un schéma thérapeutique.

2.4.1.2- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La CMI se définit comme étant la plus faible concentration d'antibiotiques inhibant en 18 à 24 heures la multiplication des bactéries.

Elle permet également de classer une bactérie selon quelle soit sensible, intermédiaire ou résistante et présente une grande importance dans les états infectieux sévères.

2.4.2- Sérotypie

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

Les réactions immunologiques sont fréquemment utilisées pour le typage de la plupart des bacilles Gram négatif, en particulier *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les méthodes de typage des antigènes capsulaires de *Staphylococcus aureus* ont été récemment améliorées (5, 51).

Le sérotypage sert également à l'identification d'autres bactéries, aussi bien en épidémiologie qu'en matière de recherche (1).

2.4.3- Biotypie (58, 27)

Les procédés d'identification des sous groupes de bactéries basés sur les réactions biochimiques caractéristiques sont couramment utilisés.

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

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

Cependant, ces profils sont encore utilisés mais ils sont combinés à des modèles d'analyse de sensibilité antimicrobienne qui permettent de faire la

distinction entre les différents isolats.

2.4.4- Lysotypie

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

La technique est spécialement adaptée au typage des souches de *Staphylococcus aureus* (59).

Ce procédé est habituellement utilisé dans les laboratoires de référence. Le transfert de plasmides par le bactériophage peut interférer dans l'interprétation des résultats (12).

2.4.5- Bactériocinotypie

Les bactériocines sont des substances élaborées par certaines bactéries et qui peuvent inhiber la croissance d'autres bactéries. Donc, la production de telles substances par une souche épidémique ou la sensibilité de la bactérie en question aux produits sécrétés par d'autres bactéries peut être utilisé comme une méthode de typage pour un certain nombre de micro-organismes.

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

2.4.6- Plasmides de résistance (11)

Ce sont des DNA extra chromosomiques qui sont capables d'autoréplication.

Les plasmides sont transmis à une autre bactérie par conjugaison ou transduction.

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

Les plasmides peuvent être typés par digestion à l'aide d'une endonucléase de restriction. Ces enzymes de restriction reconnaissent les séquences nucléotidiques spécifiques sur le DNA et produisent des fragments de DNA double brins. Il y a au moins 36 de ces enzymes pour lesquelles la reconnaissance spécifique de la séquence et le clivage ont été bien définis.

Cependant, les techniques sont si encombrantes que leur utilisation est limitée.

2.4.7- Ribotypie (44, 55)

Elle consiste en l'analyse électrophorétique des fragments de restriction des RNA ribosomiques .

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

2.4.8- Toxinotypie

Les toxines sont des substances libérées par une bactérie. Ces substances peuvent être de nature protéique ou lipopolysaccharidique. Ces toxines peuvent varier d'une souche à une autre.

La toxinotypie nous renseigne sur le profil électrophorétique de différentes toxines.

2.4.9- Zymotypie (9, 31, 13, 44)

C'est un critère taxonomique qui utilise le polymorphisme enzymatique d'une souche. Certaines souches bactériennes peuvent être caractérisées par leurs protéines de structure ou par les protéines sécrétées.

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

Généralement, trois groupes d'estérases A, B et C correspondant à des souches d'origine géographique différente sont décrites.

2.4.10- Pulsotypie (44, 55, 24)

L'analyse d'ADN génomiques des staphylocoques, est une méthode de référence pour la caractérisation des différentes espèces.

Elle consiste en une analyse électrophorétique des fragments de restriction du DNA chromosomique dans un champ électrique pulsé.

Tout ce que nous avons vu dans ce chapitre constitue des méthodes directes de diagnostic, mais nous avons des méthodes indirectes encore appelées Méthodes Séroimmunologiques qui sont à la fois des méthodes de diagnostic d'infections Bactériennes et d'infections virales.

2.5- Méthodes indirectes de diagnostic : méthodes seroimmunologiques

Elles sont basées sur :

- le dosage des Cytokines de l'inflammation: IL1, IL6, TNF α , IFN γ
- La mise en évidence d'une réaction antigène-Anticorps invisible.

2.5.1- Dosage des cytokines de l'inflammation IL1 IL6, TNF α , IFN γ (16)

De nombreuses cytokines sont retrouvés au sein des foyers inflammatoires. Deux d'entre elles, l'interleukine 1 IL1 et le Tumor Nécrosis Factor (TNF alpha) constituent les chefs d'orchestre des mécanismes de l'inflammation. Sous leur action, de nombreuses cellules produisent des médiateurs lipidiques, des enzymes protéolytiques, des radicaux libres et autant de facteurs directement responsables des effets délétères observés.

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

Pour amplifier la réponse immunitaire, IL1 et TNF alpha verront leur production augmentée par des cytokines tels que l'interferon gamma (IFNG), l'interleukine 3 (IL3) ou le Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF).

D'autres cytokines comme IL6 et IL8 jouent un rôle plus ciblé au cours des réactions inflammatoires.

2.5.2-Mise en évidence d'une réaction antigène anticorps (Ag-Ac) Invisible

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

Ces réactions sont les suivantes:

2.5.2.1- Réactions d'Immunofluorescence

Elles consistent à faire réagir les sérums étudiés sur des antigènes figurés déposés sur des lames.

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

2.5.2.2- Réaction de Fixation du Complément

On utilise le fait que lorsque l'ensemble des éléments qui forment le système du complément est en présence d'un complexe Ag-Ac, dont l'Ag est cellulaire et l'Ac capable de fixer le complément, la réaction Ag-Ac va alors aboutir à la lyse de la cellule antigénique et on peut ainsi, en prouvant la réalité d'une réaction Ag-Ac invisible, montrer que cette réaction a fixé le complément pour permettre l'hémolyse dans un système hémolytique.

Cette réaction Ag-Ac est une réaction à 5 composantes :

- l'Ag
- l'Ac
- le complément
- le système hémolytique constitué par exemple de globules rouges de mouton et des Ac anti globules rouge de mouton
- les hématies

2.5.2.3- Hémagglutination Passive

Consiste à mettre en présence diverses dilutions de sérums étudiés et de hématies jouant le rôle de particules inertes à la surface desquelles ont été fixées des antigènes.

La plupart du temps, le test est pratiqué en plaque de microtitration à fond rond.

2.5.2.4- Réactions de Précipitation

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

- il faut que l'Ag soit soluble
- il faut que l'Ac soit précipitant

et alors le mélange en proportion convenable de la solution antigénique et de l'Ac va entraîner, au bout d'un certains temps, un précipité

Cette réaction Ag-Ac s'explique par la théorie du réseau.

Parmi ces réactions on peut citer :

- la réaction d'ouchterlony
- l'immuno électrophorèse
- l'électrosynérèse = contre immuno électrophorèse

2.5.2.5- Réaction Immuno Enzymatique = TECHNIQUE ELISA

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

Les substrats les plus utilisés sont: la peroxydase et la phosphatase

III- PLACE DES ANTIBIOTIQUES DANS LES INFECTIONS NOSOCOMIALES EN GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE

3.1- Généralités sur l'évolution de la chimiothérapie

3.1.1- Définition de la chimiothérapie

La chimiothérapie est l'utilisation des substances chimiques, en vue de lutter contre la prolifération des agents microbiens, parasitaires, viraux ou la prolifération des cellules tumorales.

Notre propos se limitera aux anti infectieux, en écartant les anti parasitaires, les antiviraux et antimétaboliques.

3.1.2- Historique

Les débuts de la chimiothérapie infectieuse remontent aux années 1935-1940.

Le point de départ, est cependant la découverte au Sainte Mary's Hôpital de Londres de la PENICILLINE par SIR ALEXANDER FLEMMING en 1928.

Mais il faudra attendre 1938 pour que l'équipe de l'université d'OXFORD avec CHAIN ABRAHAM, HEATLEY, FLOREY donnent la structure de la pénicilline, ses propriétés physico chimiques et thérapeutiques.

La découverte de FLEMMING est le fait du hasard, en effet ce professeur travaillait sur les staphylocoques dorés et il s'est aperçu que certaines boîtes de pétri ou étaient cultivés sur gélose ces staphylocoques, présentaient des moisissures qu'il attribua à l'inhibition de la culture, ce qui signifiait donc le défaut de développement. Les substances prélevées au niveau de ces zones, ont présenté en effet des propriétés Bactériostatiques et Bactéricides sur les germes microbiens.

L'étude poussée a montré que sur la culture de gélose de la boîte de pétri, il y avait par endroits des champignons du genre *Penicillium*: *Penicillium notatum* c'est pourquoi ils appelèrent cette substance: Pénicilline.

Devant les moyens réduits de ces chercheurs Anglais, l'idée leur vint d'immigrer vers les USA pour y poursuivre leurs travaux et envisager la production industrielle de la pénicilline.

A partir de 1940 et grâce aux subventions de certains laboratoires tels que SHARP, DOHME (MSD), SQUIBB, la production industrielle de la pénicilline fut possible.

D'autres études portant sur la préparation par fermentation immergée des spores de *Penicillium notatum* ont montré que le rendement pouvait être amélioré avec une autre espèce de *Penicillium*: *Penicillium chrysogenum* en ayant soin d'ajouter au milieu de culture une source de carbone en général du lactose et une source d'azote en général du Corn Stepp Liquide = liquide de Trempage de maïs .

Les essais thérapeutiques n'ont commencés qu'en 1943 et permirent de traiter beaucoup de cas d'infections et surtout les streptococcies meurtrières à l'époque.

La Pénicilline a permis d'éviter certaines amputations sur les lieux de bataille et surtout celles dues aux gangrènes.

Ce succès a valu à l'équipe d'OXFORD le prix Nobel de Médecine en 1943.

La notion à retenir devant la découverte de FLEMMING est celle énoncée en 1877 par PASTEUR et vingt ans plus tard en 1897 par JOUBERT, TYNDALL, DUSCHENE, est la notion de concurrence Biologique entre Micro-organismes.

En effet selon PASTEUR, chez les êtres vivants plus encore que chez les grandes espèces animales ou végétales la vie empêche la vie. PASTEUR dans sa conclusion dit que ces faits autorisent peut être les plus grandes expériences du point de vue thérapeutique.

L'équipe de DUSCHENE devait confirmer les conclusions de PASTEUR par des injections simultanées à un animal, de cultures virulentes de germes microbiens, notamment le bacille de EBERTHE et le *Penicillium glaucum*. Ils obtiennent ainsi une atténuation de la virulence.

A partir de ce moment on encouragea d'autres recherches sur les champignons inférieurs Telluriques.

En 1945 WAKSMANN découvre la STREPTOMYCINE à partir de *Streptomyces griseus*

En 1947 ce fut la découverte à partir de *Streptomyces venezuela* du CHLORAMPHENICOL.

En 1948 ce fut la découverte à partir de *Streptomyces aureofaciens* de l'AMEOMYCINE du groupe de cycline. Dans ce groupe des cyclines on a eu:

- l'auréomycine (1949)
- l'Oxytétracycline (1950)
- la Tétracycline (1952)

En 1945 en Sardaigne JOSEPH BROTZU découvre un champignon qu'il appelle *Cephalosporium acremonium* qui pousse dans les égouts et le filtrat de ces *Cephalosporium* est capable d'inhiber la croissance des germes microbiens.

Cette découverte a intéressé l'école d'OXFORD et en 1948 ABRAHAM parvient à extraire de ces CEPHALOSPORINES C une substance qui présente les mêmes propriétés que le filtrat de Céphalosporine.

En même temps que les chercheurs Anglais étudiaient les propriétés thérapeutiques de la pénicilline, d'autres travaux étaient effectués en Allemagne et en France, travaux qui aboutirent en 1935-1936 à la découverte de sulfamides antibactériens.

Le point de départ de ces investigations est représenté par les travaux intéressants d'EHRlich 1905 sur les colorants diazoïques des textiles.

En effet EHRlich a constaté que tous les colorants diazoïques des textiles avaient des propriétés Antiseptiques et antibactériennes et que ces propriétés étaient liées au pouvoir Tinctorial.

En 1935 une équipe Allemande dirigée par DOMAGK réussit la synthèse de la SULFAMIDO CHRYSOÏDINE.

Cette molécule obtenue présentait des propriétés antiseptiques et antibactériennes "In vivo", elle est inactive "in vitro"; en effet, utilisée dans le traitement des mammites en Médecine Vétérinaire, elle s'est montrée décevante.

Mais elle était reconnue active sur les streptocoques et a permis de traiter des streptococcies qui étaient jusque là mortelles.

Ceci entraîna d'autres travaux en vue de mettre au point d'autres composés qui seraient actifs "in vitro" et "in vivo".

Le PRONTOSIL fut découvert, actif "in vivo" et inactif "in vitro".

En 1936 une équipe dirigée par GIRARD a mis au point un produit connu sous le nom de RUBIAZOL qui comme le prontosil se montra actif "in vivo" et inactif "in vitro".

C'est alors qu'à l'Institut PASTEUR de PARIS l'équipe du Professeur FOURNEAU avec JACQUES, THERESE TREFONEL, NITTI et BOVET a entrepris des travaux pour justifier les propriétés pharmacologiques de la sulfamido chrysoïdine.

La même année en 1936, ils arrivèrent à la conclusion que dans l'organisme la sulfamido chrysoïdine subissait une réaction sous l'action d'une Azo Réductase avec rupture de la liaison Azo et formation de deux types de composés incolores, un actif et un inactif:

- La SULFANILAMIDE qui est le seul produit actif donc représente la partie utile dans la sulfamido chrysoïdine. Il est actif aussi bien "in vitro" que "in vivo".
- Le CHRYSOÏNO-BENZENE qui est inactif

3.2- Classification des antibiotiques

3.2.1- Classification basée sur l'origine

3.2.1.1- Origine Fongique

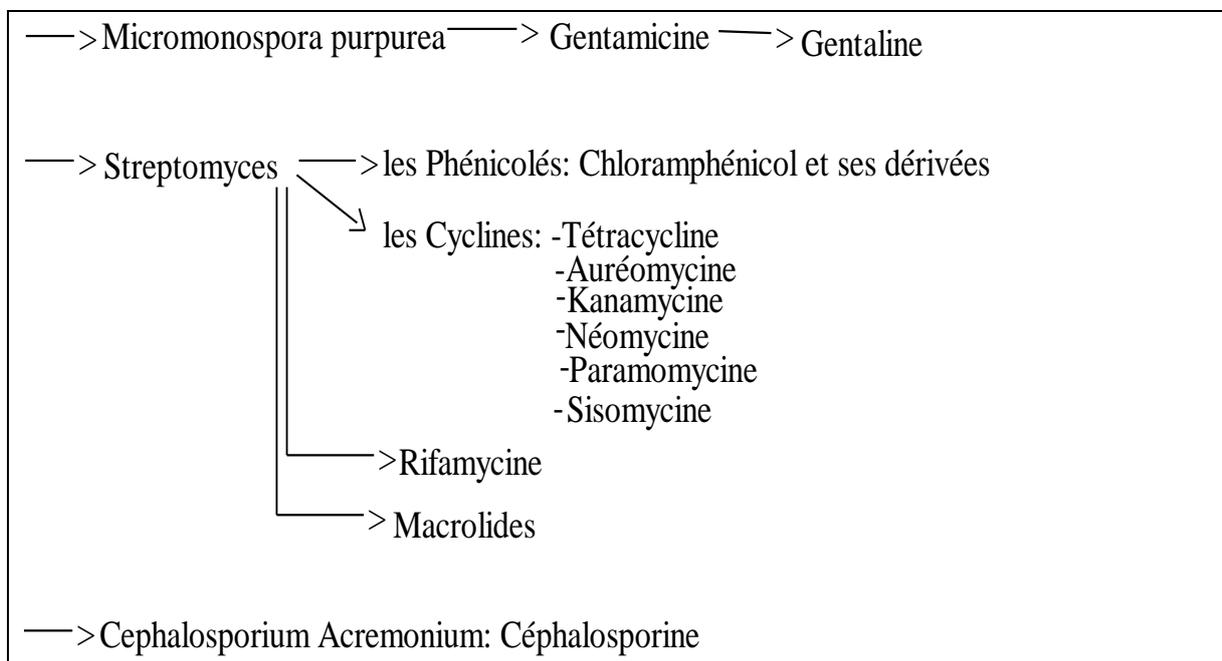
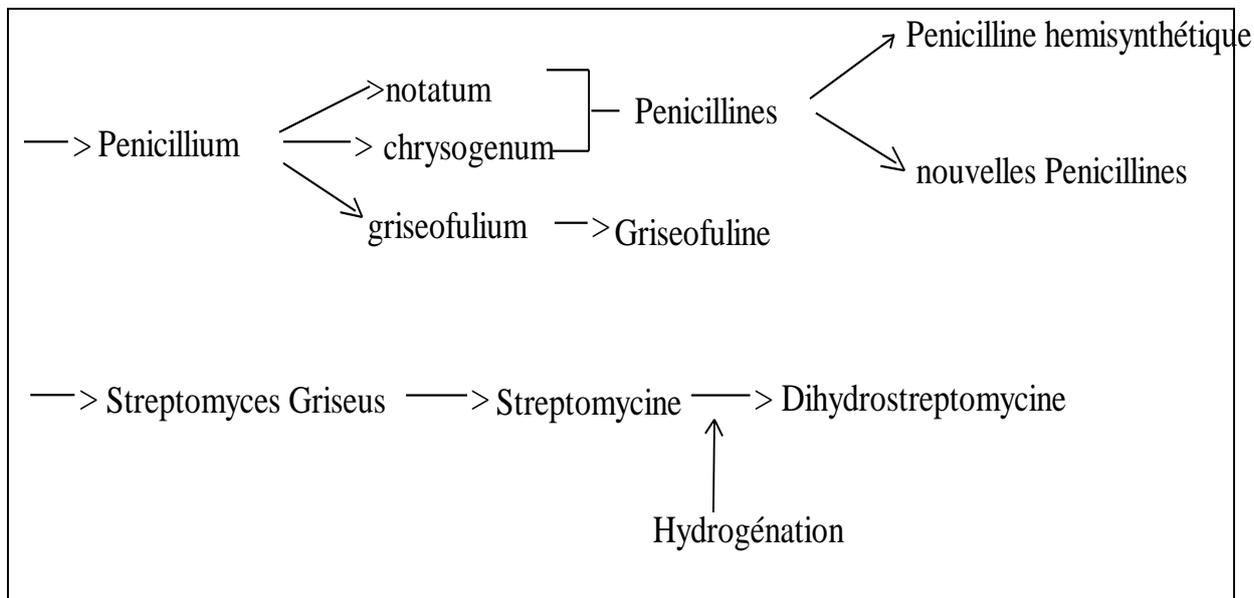


figure :1 : Classification basée sur l'origine fongique

La streptomycine est devenue le chef de file des aminosides, comme la pénicilline est devenue le chef de file des Béta lactamines

3.2.1.2- Origine Bactérienne: BACILLUS

- Bacillus polymyxa → Polymyxine E = Colistine = Colimycine
- Bacillus subtilis → Bacitracine

3.2.1.3- Antibiotiques de Synthèse

- Les quinolones avec:
 - * l'acide Nalidixique
 - * Pefloxacin
 - * Ofloxacin
 - * Norfloxacine
- Association sulfamide retard + Diamino pyrimidine
Avec le Cotrimoxazol = Bactrim* comme exemple.
On les répartit généralement en familles
 - * Sulfamides antibactériens
 - * Sulfones antibactériens
 - * Les Diamino pyrimidines
 - * les Dérivés de l'hydroxy-8-quinoléine
- Les Dérivés hétérocycliques nitrés avec plusieurs familles :
 - * Les Nitro-5-Furraniques
 - * Les Nitro-5-Imidazolés
 - * Les Nitro thiazols
- Les quinolones

3.2.2- Classification basée sur les propriétés bactériostatique et bactéricide

3.2.2.1- Les Antibiotiques Bactériostatiques

- Antibiotiques d'origine fongique
 - * Les Macrolides (selon la dose)
 - * Les Phénicoles
 - * Les cyclines
- Antibiotiques de synthèse
 - * Les dérivés Nitrés
 - * Les dérivés de l'hydroxyl 8 quinoléine

- * Les sulfamides
- * Les Diamino pyridine qui ont une activité Bactéricide au dessus d'un certain seuil de concentration

3.2.2.2- Antibiotiques Bactéricides

- les Béta lactamines
 - * Pénicilline
 - * Céphalosporines
 - * Monobactam
- Les Aminosides et dérivés
- Rifamycine et Rifampicine
- Le Polypeptides
- Les produits de synthèse
 - * Les quinolones
 - * Les sulfamides Retard + Diamino pyrimidine

3. 3- Résistance des bactéries aux antibiotiques

Lorsque les antibiotiques (ATB) furent introduits en thérapeutique pendant la deuxième guerre mondiale (1940) on pensait que le problème des infections était définitivement résolu.

En effet, de grandes victoires ont été remportées grâce à l'important Arsenal Antibiotique de l'époque. Mais quelques temps après, on s'est rendu compte qu'à côté des germes Bactériens sensibles à ces ATB, il y avait d'autres qui étaient insensibles car résistants.

Cette résistance bactérienne fut observée pour la première fois en 1940, puis plus tard en 1945 au Japon à l'occasion d'une dysenterie BACILLAIRE aux SHIGELLES.

Les souches de ces shigelles étaient devenues résistantes à un certain nombre d'antibiotiques qui, autrefois, les détruisaient.

De plus, ces germes, rebelles parce que résistants, ont prolifère avec plus de facilité que ceux qui sont détruits par les antibiotiques, leur laissant la place pour se développer.

Par ailleurs, on se rendit compte que certains facteurs de résistance sont transmissibles d'une espèce de bactérie à une autre. Cependant, il convient de préciser que l'apparition de la résistance d'un germe bactérien à un antibiotique est

un événement indépendant de l'antibiotique qui ne l'induit pas.

Pour le bactériologiste, une bactérie est résistante à un antibiotique, lorsqu'elle n'est pas détruite par cet antibiotique.

Les excès de l'antibiothérapie ont favorisé l'émergence de souches bactériennes résistantes, et ont profité aux germes opportunistes qui se sont empressés d'occuper la case écologique libérée.

L'apparition des souches résistantes aux antibiotiques a été le point de départ d'une course effrénée entre l'astuce des chimistes et la volonté têtue de survie des microbes.

La source des souches résistantes est constituée par les patients eux mêmes ou leur environnement. Très rapidement, au cours de l'hospitalisation, les patients sont colonisés par une flore riche des bacilles à Gram négatif et staphylocoques, tant au niveau pharyngé qu'intestinal.

Cette colonisation est favorisée par l'apport microbien du personnel de soins, de la nourriture et l'environnement du patient.

3.3.1- Types de résistances

Dans une population bactérienne donnée, toutes les bactéries n'ont pas la même sensibilité à un antibiotique donné.

Certaines sont très sensibles et seront inhibées ou détruites par de faibles doses d'antibiotiques, d'autres sont naturellement résistantes et se multiplient même au contact de fortes doses d'antibiotiques.

Ceci a permis de parler de spectre anti bactérien des antibiotiques: c'est la RESISTANCE NATURELLE.

Dans certains cas, après un certain temps de traitement, une bactérie sensible peut devenir résistante: on dit qu'il y a RESISTANCE ACQUISE de cette bactérie à l'antibiotique.

3.3.1.1- Résistance acquise par mutation chromosomique

Elle est de survenue brutale, à la suite d'une mutation de la bactérie, c'est à dire une variation génotypique.

Elle est :

- Héritaire, c'est à dire que la bactérie la transmet à sa descendance
- Rare, elle représente 10% des résistances
- Spontanée, c'est à dire non induites par l'antibiotique
- Mono résistante à un seul antibiotique : on dit qu'elle est spécifique.

3.3.1.2- Résistance plasmique

Elle constitue un problème majeur de l'antibiothérapie, car elle compte pour 80 à 90% des résistances en bactériologie clinique, surtout chez les bacilles Gram négatifs.

Les antibiotiques échappant à la résistance plasmidique sont :

- Rifamycine
- Polymyxine
- Quinolone
- Nitro Furranique

Les antibiotiques pour lesquels une résistance plasmidique a été démontrée sont:

- Les Pénicillines
- Les Céphalosporines
- Les Aminosides
- Les Phénicolés
- Les Cyclines
- Les Macrolides
- Les Sulfamides
- Les Diamino pyrimidines

Mécanisme de cette Résistance

Il s'agit de conjugaison des cytoplasmes, avec migration des plasmides du germe résistant au germe sensible à l'antibiotique.

Il y a donc transfert de Plasmides d'une Bactérie résistante à une bactérie sensible par simple contact.

Ce transfert peut se faire aussi par l'intermédiaire de virus Bactériophages : c'est le cas des staphylocoques, des streptocoques. Ce mode est moins fréquent : on dit qu'il y a TRANSDUCTION.

Pour présenter les plasmides, on dira que ce sont de petites molécules d'ADN situées dans le cytoplasme Bactérien et capables de se diviser indépendamment du noyau.

Une même Bactérie peut héberger plusieurs plasmides identiques ou différentes. Elles sont en général circulaires, fermées ou en Torsade.

3.3.2- Cas particuliers

3.3.2.1- Résistance aux Bêta Lactamines

Les Bêta lactamases sont des enzymes d'inactivation du cycle Bêta lactame, structure de base des Bêta lactamines dont l'hydrolyse entraîne la perte d'activité antibactérienne.

Leur localisation est exocellulaire: espèces à Gram positif: *S. aureus* ou périplasmique: espèces à Gram négatif.

Certaines Bêta lactamases sont inductibles: PENICILLINASE de *S.aureus* ou de Bacillus, CEPHALOSPORINASE de Bacilles Gram négatif, exemple IMIPENEME, CEFOXITINE.

La production de ces dernières est induite au moins par les premières Bêta lactamines à savoir: Ampicilline, Céphalosporine de première générations.

En revanche, les Bêta lactamases constitutives sont produites en l'absence de tout inducteur: Pénicillinases plasmidiques des bactéries à Gram négatif et quelques enzymes chromosomiques: *K. pneumoniae* .

Les Bêta lactamases secrétées par les différentes souches sont des molécules distinctes: certaines ont une affinité plus grande que les pénicillines, ce sont les pénicillinases, d'autres pour les céphalosporines: ce sont des céphalosporinases et elles ont des propriétés physico- chimiques différentes (2,20).

A côté de cette résistance par production des Bêta lactamases nous avons une résistance par modification des protéines de liaison de la pénicilline (PLP) (7) et une résistance par diminution de la perméabilité.

- La résistance acquise aux Bêta lactamines par modification de la cible, c'est-à-dire les PLP est surtout observée avec les bactéries à Gram positif. Elle peut être la conséquence d'une modification de la structure d'une PLP essentielle, entraînant une réduction de son affinité pour l'antibiotique ou l'augmentation importante de la synthèse d'une PLP essentielle qui ne peut être saturée que par une quantité plus importante d'ATB.

Il peut s'agir aussi de l'apparition d'une nouvelle PLP qui fonctionnellement se substitue à une ou plusieurs PLP essentielles et dont l'affinité pour l'antibiotique est faible.

Ce type de résistance est due à une mutation de gènes chromosomiques ou à l'acquisition de nouveaux gènes par transfert génétique.

- La résistance par diminution de la perméabilité peut être liée à une mutation chromosomique affectant la synthèse d'une porine ou du

lipopolysaccharide, réduisant ainsi la perméabilité de la membrane externe et perturbant le transport intrapariétal des Bêta lactamines: l'Antibiotique ne peut plus alors atteindre sa cible.

3.3.2.2- Résistance aux aminosides (3,16,66)

On distingue deux types de résistances

↳ Résistance Naturelle

Les bactéries anaérobies strictes et les bactéries aérotolérantes sont naturellement résistantes aux aminosides.

Parmi les espèces aérobies à Gram négatif, certaines sont résistantes à divers aminosides, c'est le cas de *P. aeruginosa*

↳ Résistance Acquisie

Elle se fait selon divers mécanismes.

* Altération de la cible

Le changement d'un seul acide aminé dans une protéine ribosomale entraîne une diminution de l'affinité du ribosome pour un antibiotique.

* Interférence avec le Transport de l'antibiotique

La pénétration des Aminosides dans les bactéries est un phénomène :

- de diffusion passive au travers des porines de la membrane externe
- de transport actif requérant de l'énergie au niveau de la membrane interne.

Les CMI sont faiblement augmentées et ce type de résistance est de détection délicate. Les mutations qui affectent le système actif du transport entraînent une diminution de l'accumulation d'ATB dans la cellule.

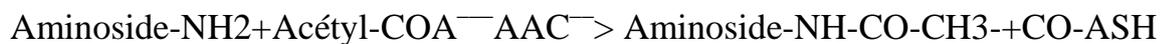
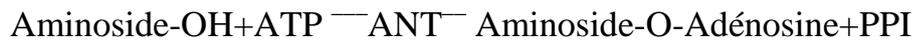
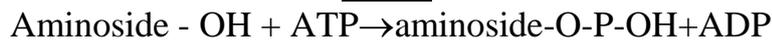
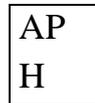
* Détoxification enzymatique des antibiotiques.

La modification enzymatique des aminosides médiée par les plasmides, constitue le mécanisme de résistance à ces antibiotiques le plus fréquemment rencontré en clinique.

Les enzymes sont divisées en trois classes:

- Aminoside - Phosphotransférase (APH)
- Aminoside - nucléotidyltransférase (ANT)
- Aminoside - Acétyl transférase (AAC)

En fonction de la réaction qu'elles catalysent (phosphorylation, ou adénylation d'un groupement hydroxyle, acétylation d'un groupement aminé) et en sous classes, en fonction du site de la molécule d'ATB qu'elles modifient.



Modification enzymatique des aminosides: Phosphorylation ou adénylation d'un groupement hydroxyle, acétylation d'un groupement aminé

Les enzymes diffèrent dans leurs éventails de substrats et quelques une existent sous diverses formes isozymiques.

Le problème de la sélection in-vivo et de la dissémination ultérieure des mécanismes de résistance sont encore compliqués.

En effet, la majorité des souches résistantes aux aminosides hébergent un ou plusieurs plasmides codant chacun fréquemment pour plusieurs enzymes modificatrices ou associent divers mécanismes de résistance.

Seules les phosphotransférases confèrent de très hauts niveaux de résistance.

L'enzyme confère à l'hôte la capacité de croître en présence de plus fortes concentrations d'antibiotiques non modifiées. La résistance est due à l'équilibre entre un transport peu efficace des aminosides à l'intérieur de la bactérie et de l'inactivation enzymatique de ces molécules.

Le phénotype résistant conféré par une enzyme donnée dépend à la fois quantitativement et qualitativement de l'hôte. Un mécanisme de résistance n'a pas de "niveau" en soi. Il agit en amplifiant le niveau de sensibilité de la bactérie hôte.

(16)

↳ *Notion de Haut Niveau de Résistance aux Aminocyclitolides (HNR) (66)*

Les streptococcus sont résistants aux aminocyclitolides car ceux ci y pénètrent difficilement.

Leur pénétration nécessite l'énergie d'un gradient de protons que ces bactéries ne produisent pas.

Afin de détecter si la résistance est due à la non pénétration (bas niveau de résistance) à une modification de la cible ou à une enzyme inactivatrice (haut niveau de résistance), les aminocyclitolides doivent être dans ce cas, testés à la fois avec les disques habituels et avec des disques très chargés.

Des souches d'entérocoques présentent un haut niveau de résistance aux aminocyclitolides (CMI supérieure à 1000 mg/ml). Ce HNR a été défini chez les souches cliniques *d'Enterococcus faecalis* et *d'Enterococcus faecium* (3).

Il s'explique essentiellement par l'acquisition de la bactérie de gènes plasmidiques ou transposables codant pour la synthèse d'enzymes modificateurs.

3.3.2.3- *Résistance aux macrolides, lincosamides, streptogramines*

Il s'agit d'une résistance acquise selon différents mécanismes

↳ *Par modification de la cible*

* Mécanisme biochimique et déterminisme génétique du phénotype MLSB.

Le Mécanisme de cette résistance consiste en une altération spécifique et unique du ribosome bactérien. Les souches résistantes produisent une méthylase, responsable de la déméthylation d'une adénine dans l'ARN 23 S de la sous unité ribosomale 50 S.

Cette altération ribosomale entraîne probablement des changements de confirmation de l'ARNr 23 S qui ont pour conséquence la réduction de l'affinité entre les MLS et leur cible.

La résistance ainsi conférée est croisée entre les macrolides, les lincosamides et les streptogramines B, dont les sites de fixation sont communs ou se chevauchent, d'où le nom de Phénotype MLSB (39).

* Expression de la Résistance MLSB et de sa Régulation.

Si la résistance est inductible, il y a dissociation entre l'activité des macrolides en C¹⁴ et celle des autres macrolides, des lincosamides et des stréptogramines. Si la résistance est constitutive, la souche est résistante à l'ensemble des macrolides, des lincosamides et au seul facteur B des stréptogramines.

La régulation de la résistance est Post Transcriptionnelle (39).

↳ *Par Inactivation des Antibiotiques*

Les antibiotiques du groupe MLS sont susceptibles d'être inactivés par différentes enzymes. Cependant la résistance par inactivation n'est pas croisée entre les antibiotiques non apparentés chimiquement et elle est de faible fréquence .

Les enzymes concernées sont:

- les estérases
- les Acétylases
- les hydrolases
- les nucléotidases

↳ *Par Imperméabilité*

Les souches résistantes n'inactivent pas les ATB, il y a juste une diminution de l'accumulation intracellulaire des macrolides. Cette résistance serait due à une modification du transport des macrolides en C¹⁴ .

3.3.2.4- *Résistance aux Quinolones*

Les bactéries acquièrent une résistance exclusivement par mutation chromosomique. Ces mutations entraînent soit une modification de la cible, soit une interférence avec le transport de l'ATB.

3.3.2.5- *Résistance aux Tétracyclines*

Le principal mécanisme de résistance repose sur l'insuffisance de concentration intracellulaire en ATB. Le système actif de transport est en balance avec un système excréteur responsable de la résistance. Celle-ci est surtout liée à une excrétion excessive d'ATB à travers la membrane cytoplasmique, faisant intervenir la synthèse inductible ou constitutive du système excréteur. Ce système de pompe régulé négativement, comporte deux gènes :

- Celui de contrôle ou repressueur
- Celui de structure ou protéine TET.

Parmi les autres mécanismes de résistance évoqués l'un est en relation avec la protection des ribosomes (TETM). L'incidence de la résistance par imperméabilité observée chez les souches porines déficientes qui sont exclusivement des espèces à Gram négatif est encore faible, mais la résistance est croisée avec d'autres ATB comme les Bêta lactamines, le chloremphénicol et l'acide nalidixique.

3.3.2.6- Résistance aux Phénicolés (66)

Le mécanisme de la résistance plasmidique est surtout enzymatique et se fait par l'intermédiaire de chloremphénicol-Acétyle Transférase (CAT), qui inactivent ces ATB en C₃ et C₁, avec comme cofacteur l'Acétyle Coenzyme A selon trois étapes.

- Chloremphénicol+Acétyle-S-COA \longrightarrow 3-O-Acétyle-Chloremphénicol+HSCOA

- 3-O-Acétyle-Chloremphénicol \longrightarrow 1-O-Acétyle-chloremphénicol

- 1-O-Acétyle-Chloremphénicol+Acétyle-S-COA \longrightarrow 1,3 Diacétyle Chloramphénicol+HS-COA

Résistance Enzymatique aux Phénicolés

Outre la résistance plasmidique par inactivation, un autre mécanisme est en relation avec la diminution de perméabilité de la paroi, entraînant une résistance croisée avec d'autres antibiotiques (Bêta lactamines, Quinolones, Triméthoprime).

3.3.2.7- Résistance vis à vis des Sulfamides et du Triméthoprime

On a deux types de résistance:

↳ *Résistance Naturelle*

La résistance naturelle aux sulfamides est définie par une CMI supérieure à 100 mg/l. Parmi les souches résistantes, 90% ont une CMI supérieur à 2000 mg/l. Cette résistance concerne toutes les espèces en particulier les entérobactéries.

Un mécanisme possible de la résistance au Triméthoprim, pourrait être l'utilisation des folates exogènes, comme chez les entérocoques.

Les souches ayant une CMI supérieure ou égale à 2 mg/l sont résistantes et celles dont les CMI sont supérieures à 1000 mg/l sont dites souches résistantes de haut niveau.

↳ *Résistance Acquise*

Il s'agit soit de mutations chromosomiques, soit d'une résistance codée par des plasmides (voir tableau: I)

Tableau I: Mécanisme de Résistance en fonction du Déterminisme Génétique

	RESISTANCE CHROMOSOMIQUE	RESISTANCE PLASMIQUE
Sulfamides	<ul style="list-style-type: none"> -Diminution de la perméabilité - Hyperproduction de PAB - Hyperproduction de DHPS - DHPS mutée résistante 	- DHPS additionnelle, diminution de la perméabilité
Triméthoprim	<ul style="list-style-type: none"> - Diminution de la perméabilité -Auxotrophie en Thymine - Hyperproduction de DHFR - DHFR mutée résistante 	- DHFR additionnelle, diminution de la perméabilité

3.3.2.8- *Résistance à la Vancomycine*

Le mécanisme de résistance des germes à Gram positif reste inconnu. La tolérance a été décrite en 1977 chez *S. aureus*, elle serait croisée avec certains antibiotiques interférant avec la biosynthèse du peptidoglycane, comme les Bêta lactamines, la fosfomicine et en relation avec un déficit du système Mureine hydrolase.

Enfin, le mécanisme de la résistance naturelle des bactéries à Gram négatif est une imperméabilité de la paroi antibiotique hydrophobe.

3.3.2.9- Méthicillinorésistance (oxacilline et dérivés) (4)

C'est en 1960 que les premières souches de *S. aureus* résistantes à la méthycilline (S-A-R-M) ont été observées en Angleterre.

La particularité de ces types de résistance est liée à son expression "hétérogène", ce qui veut dire que seule une fraction de la population est capable d'exprimer la résistance: en moyenne une bactérie sur 10^4 à 10^6 exprime la résistance.

Certaines souches sont extrêmement hétérogènes, alors que, pour d'autres, l'expression de la résistance s'exprime pour la quasi totalité de la population, et ces souches sont dites "homogènes"

Différents facteurs sont susceptibles de modifier l'expression de cette résistance.

Lorsque les conditions idéales de culture sont réunies, le nombre de cellules exprimant la résistance peut être multiplié par 10^3 ou 10^4

Tableau : II Facteur de Résistance

FACTEUR	CONDICTIONS DE LA RÉSISTANCE
Température	37°C
Concentration	2-6% d'oxacilline
Indice	Oxacilline
pH	7.4
Déclatation	4h
Incubation	10-15 jours

Chez les S-A-R-M, la résistance à la méthycilline est due à la synthèse d'une nouvelle PLP appelée PLP 2a pour laquelle les Bêta lactamines n'auraient qu'une faible affinité.

La synthèse de la PLP 2a serait inductible, expliquant ainsi le caractère plus ou moins hétérogène de la résistance en fonction de la souche, de l'antibiotique étudié et des différents facteurs préalablement cités.

La résistance à la Méthycilline est croisée avec celle de toutes les autres Bêta lactamines in vitro mais aussi in vivo.

Les S.A.R.M sont aussi producteurs d'une pénicillinase sauf quelques rares souches. Ils sont toujours résistants à la streptomycine, aux Tétracyclines, aux sulfamides et généralement à l'érythromycine.

3.4- Choix d'un antibiotique : les modalités

Nous entendons par antibiotiques les différents médicaments antibactériens dans les emplois curatifs ou prophylactiques. Et vue l'émergence et le développement rapides des infections nosocomiales en gynécologie obstétricale l'utilisation de ces antibiotiques, tant sur le plan prophylactique que sur le plan thérapeutique, nécessite le respect de certains critères primordiaux à savoir:

- le site infectieux
- la bactérie
- l'hôte
- la pharmacocinétique de l'antibiotique

3.4.1- *Le site infectieux*

Les possibilités de diagnostic clinique et paraclinique (notamment l'isolement bactériologique) permettent de localiser le site infectieux initial, c'est-à-dire de choisir la molécule qui y diffuse le mieux.

3.4.2 *La bactérie et sa sensibilité*

Dans l'attente des résultats bactériologiques, la qualité de l'antibiothérapie initiale dépend des connaissances épidémiologiques du clinicien.

Elle est basée sur la fréquence des germes en cause dans le site infecté avec notion de "Présomption bactériologique".

Elle intègre l'écologie bactérienne propre à la maternité: fréquence des différentes espèces bactériennes.

Etat actuel et évolution de la résistance de ces espèces bactériennes aux différents antibiotiques.

3.4.3 *Le terrain sous-jacent =hôte*

C'est la capacité de distribuer, d'éliminer et de tolérer l'antibiotique, notamment en fonction:

- des états physiologiques:
 - * Nouveau-né
 - * nourrisson
 - * femme enceinte
 - * femme allaitant
 - *sujets âgés

- des états Pathologiques:
- * tares viscérales
 - * états d'immuno-dépression
 - * allergie
 - * interférences médicamenteuses

3.4.4 Quelques définitions de pharmacocinetique

3.4.4.1. La Biodisponibilité

Fraction de la quantité administrée d'un antibiotique, retrouvée dans le sang et susceptible d'être disponible et présente au site de l'infection .

3.4.4.2. Aire sous la courbe

Surface en fonction du temps correspondant à la quantité d'antibiotique reçue par le patient.

Elle reflète la quantité d'antibiotique disponible pour le traitement de l'infection.

3.4.4.3. Demi-vie d'élimination

C'est le temps nécessaire a l'élimination de la moitié de la quantité d'un l'antibiotique présent dans l'organisme ; l'élimination d'un antibiotique est quasi totale 7 à 10 fois le temps de la demi- vie. Cette durée permet de calculer le délai entre les administrations pour obtenir des concentrations sériques supérieures aux concentrations minimales inhibitrices pour le germe à atteindre.

3.4.4.4. Fixation Protéique

C'est le pourcentage d'antibiotiques liés aux protéines. La partie libre de l'antibiotique est active et diffuse au niveau tissulaire. Cependant, il faut tenir compte de l'intensité et de la nature de la liaison aux protéines (nombre de sites de fixation et intensité de leur affinité. En effet, il y a équilibre entre la partie libre et la fraction liée, et, de ce fait, la fixation est transitoire.

3.4.4.5. Volume de Distribution

C'est le volume « virtuel » dans lequel se distribue le médicament à une concentration équivalente à celle du plasma.

3.4.4.6. Effet de Premier Passage

Il correspond à la fraction de la quantité de médicament qui, après absorption digestive est métabolisée lors du premier passage au travers du foie, avant d'avoir atteint la circulation générale. Il est donc responsable de la diminution de la quantité d'antibiotique disponible pour le site infectieux.

3.4.4.7. Quotient Inhibiteur

C'est, soit le rapport des concentrations tissulaires maximales à la CMI 90, soit le rapport plasmatique à la CMI 50.

Ce qu'il faut retenir :

1. Que le rôle des antibiotiques est d'abord d'abaisser la quantité de bactéries présentes au site infectieux pour permettre aux défenses immunitaires d'assurer leur rôle.
2. L'antibiothérapie ne peut actuellement remplacer les thérapeutiques médicales ou chirurgicales visant à éliminer les facteurs pérennisant l'infection.

CADRE DE L'ETUDE

1 1. MATERNITE DE L'HALD

La maternité est constituée d'un rez- de- chaussée et de deux étages.

Au rez- de- chaussée se trouve le service de néonatalogie qui a une capacité d'accueil qui s'élève à 24 berceaux tous localisée dans une grande salle et 4 couveuses regroupées dans une petite salle.

A ce niveau on retrouve :

La salle de réception qui est encore appelée service de tri avec 2 tables de consultation

La salle d'échographie avec deux appareils,

Au niveau des étages supérieurs nous avons le service gynéco obstétrique avec :

- la gynécologie avec 6 lits,
- les suites de couches pathologiques, post-opérées et suites de couches physiologiques avec 25 lits,
- une salle des moles avec 7 lits,
- l'annexe au deuxième étage avec 10 cabines.

1.2- Le laboratoire de Bactériologie – Virologie de l'H.A.L.D.

Ce service comprend:

⇒ La salle 1 où se fait la majeure partie des analyses et qui comprend 8 paillasses:

- ECBU
- divers
- prélèvement génitaux
- coproculture
- hémoculture
- liquide céphalorachidien
- antibiogramme
- tirage des résultats

Chaque paillasse est composé d'un interne et d'un technicien.

⇒ Ensuite nous avons la salle de réception des malades plus les salles de prélèvements.

Les prélèvements sont remis à la salle d'analyse grâce à de petites fenêtres

communicantes.

- ⇒ Suivent deux autres salles où se trouvent généralement les thésards.
- ⇒ Un grand couloir qui mène à la salle de *Bordetella* et à la salle d'étude.
- ⇒ La salle de stérilisation où s'effectuent la stérilisation, la préparation des milieux, la coloration de Zielh Nielsen.
- ⇒ Ensuite viennent les bureaux.

II- MATERIELS ET METHODES

2.1- Matériels

2.1.1- Matériels de prélèvement

Les prélèvements nécessitent un minimum de matériels stériles à savoir :

- tubes stériles
- aiguilles et seringues stériles
- écouvillons stériles
- abaisses langues stériles
- spéculum stériles
- gants et plateaux stériles
- ballons d'hémoculture
- antiseptiques et désinfectants

2.1.2- Matériels utilisés pour des prélèvements

2.1.2.1- Matériels d'isolement

Ce sont des milieux de culture qu'on utilise. Les principaux milieux sont :

- ⇒ Les milieux d'isolement non sélectifs :
 - gélose Muller Hinton
 - gélose au sang ordinaire GSO
 - gélose au sang cuit ou sans polyvitex GSC
 - gélose nutritive
 - milieu AM pour CMI
 - gélose CTA (cystine-trypcase-agar)

- ⇒ Les milieux d'isolement selectifs
 - gélose EMB (éosine - méthylène - blue)
 - gélose Saboureaud
 - avec Actidione (SA),
 - avec Chloramphenicol (SC)
 - gélose TCBS (thiosulfate - citrate - bile - saccharose)
 - gélose chapman
 - gélose au sang cuit+polyvitex+VCN (vancomycine-colistine-nystatine)
 - gélose lactosée BCP
 - gélose ss/agar (salmonelle - shigelle)
 - gélose au sang à l'acide nalidixique
 - gélose pyocyanosel
- ⇒ Les milieux d'enrichissement
 - Bouillon au thioglycolate + nezasurine
 - Bouillon streptosel
 - Eau peptonée hypersalée alcaline (EPHSA)
 - Bouillon au sélénite de sodium
 - Bouillon Müller Kaufman

2.1.2.2- Matériels d'identification

- ⇒ Milieu d'identification
 - Gélose viande - foie
 - Milieu de kliger - Hajna
 - Milieu Mannitol -Mobilite
 - Milieu Urée-Indol
 - Milieu au Citrate de Simmons
 - Gélose Esculine
 - Gélose DNA
 - Gélose APP (Pour la recherche de Phényl-Alanine-Desaminase)
 - Milieu pour la recherche de Decarboxylase LDC,ODC,ADH
- ⇒ Les Réactifs d'identification
 - Réactifs coloration de Gram
 - Réactifs pour la coloration de zielh
 - H₂O₂ pour la recherche de catalase
 - Disques d'oxydase

- Disque d'ONPG
- Disques d'optochine
- Sérums polyvalents et monovalents pour les *vibrions*
- Sérums agglutinants pour salmonelles, *shigelles*, *Escherechia coli*
- Kit Slidex pour *Haemophilus influenza*, *pneumocoque*, *Menigocoque*, *Streptocoque β hémolitique*
- Kit Rota pour la recherche de *Rotavirus* chez l'enfant
- Eau peptonée au rouge de phénol + différents sucres pour la détermination de biotype (duaptol, sabose, adonil, tartare).

2-1-2-3 Matériels pour l'antibiogramme

Disques d'antibiotiques

Les milieux de culture

MH : müller Hinton dans le cas des *Entérobactéries*, *Staphylocoques*, *Pseudomonas*

GSO : Gélose au sang cuit dans le cas de *Haemophilus*, *Pneumocoque*, *Neisseiria*, *Streptocoque*.

2-1-2-4 Appareils et autres matériels

Etuve à 37°, autoclave

Microscopes optiques, microscopes à contraste de phase, microscope à immuno-fluorescence

- Réfrigérateur
- Bec Bunsen
- Distributeurs automatiques Pasteur pour les disques d'antibiogramme
- Lames et lamelles
- Matériel informatique avec un ordinateur Whonet IV

2-1-2- 5 Résistance enzymatique

- Disque d'Aztréonam
 - Disque de Ceftazidime
 - Disque de Céfotaxime
- ⇒ Détermination de la Méthicillino-résistance
- Oxacilline

2.2- Méthodes

2.2.1- Méthodes de prélèvement des produits pathologiques et isolement des germes

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

La technique de prélèvement et les milieux d'isolement vont varier en fonction du produit que l'on veut prélever.

2.2.1.1- Les urines

⇒ Les prélèvements

Les méthodes varient selon qu'il s'agisse de l'enfant ou de l'adulte, et chez ce dernier elles varient selon que le sujet est coopératif ou non.

- Chez l'enfant

On a nettoyé soigneusement la région périanale, puis il a été fixé une poche qui a été renouvelée toutes les trente minutes.

Chez le bébé on peut déclencher le réflexe de miction en massant les muscles Para-vertébraux

- Chez l'adulte

Il a été fait dans des tubes stériles. Les premiers jets ont été recueillis devant la suspicion d'une urétrite, et en milieu de jet pour les cystites, et ceci après avoir lavé l'aire génitale avec une solution de Dakin ou un savon doux à trois reprises et après rinçage à l'eau stérile. Ceci c'est quand le sujet était coopératif. Quand le sujet n'était pas coopératif on utilisait une sonde stérile.

On procède ensuite à une homogénéisation des urines par vortex.

⇒ Différentes étapes de l'ECBU

Les différentes étapes sont:

- L'examen macroscopique
- L'examen microscopique avec deux volets
 - * un volet cytologique
 - * un volet bactériologique
- L'uroculture: elle est à la fois qualitative et quantitative.

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

- * Dénombrement des germes urinaires = DGU

On utilise le plus souvent la méthode de la lame immergée.

- * Bactériologie qualitative

Elle permet l'identification de la ou les bactéries en cause. On ensemence sur les différents milieux:

- ❖ Gélose Müeller Hinton
- ❖ Gélose EMB (Eosine Bleu de Méthylène)
- ❖ Gélose au sang ordinaire et de Chapman
- ❖ Incubation à 37°C pendant 24 heures

2.2.1.2- Le Sang

Il doit être prélevé avant tout traitement antibiotique, ou dans le cas contraire il faut réaliser une fenêtre thérapeutique de 48 à 72 heures.

Les prélèvements ont été répétés, et nous avons fait 6 à 8 cultures sur 48 heures.

Les prélèvements ont été faits lors des clochers thermiques lorsque la fièvre était discontinue. Quand elle était continue, ils étaient faits à n'importe quel moment.

On peut également réaliser les prélèvements au moment des frissons.

Le sang a été recueilli dans des flacons appelés ballons de culture. Ce sont des flacons commercialisés sous pression réduite, contenant les milieux de culture que l'on ensemence directement au travers d'un opercule de caoutchouc. Et ce sont ces ballons qui sont incubés directement à l'étuve à 37°C pendant 15 jours, mais chaque jour il faut sortir le ballon pour la lecture et le remettre ensuite à l'intérieur de l'étuve: c'est l'isolement.

La culture positive ne se traduit pas par la présence de colonies comme dans le cas de l'ECBU, mais par un aspect trouble du liquide avec parfois une hémolyse du culot hématique qui se dépose au fond du tube.

Ce trouble peut être évocateur, en particulier on peut observer:

- un trouble avec une coloration brun verdâtre: *Pseudomonas aeruginosa*.
- un voile plissé: souillure par *BACILLUS*.
- de nombreuses bulles de gaz qui mettent le flacon sous une pression: *Clostridium perfringens*.

⇒ Technique de prélèvement

Nous avons réalisé une ponction veineuse chez l'adulte, et chez le nouveau né une ponction de la fontanelle ou de la jugulaire.

Les prélèvements ont été réalisés avec une asepsie rigoureuse après désinfection de la surface à prélever et des mains du manipulateur.

L'asepsie est très importante, en général on utilise :

- de la teinture d'iode
- de l'alcool iodée
- de la Bétadine

A défaut de ces produits nous utilisons de l'alcool à 60°.

Remarques

⇒ Chez l'adulte on ensemence 10ml de sang par flacon, en réalisant à côté une dilution de $1/10^{\text{ème}}$ dans le milieu pour inactiver l'effet bactéricide du sang.

⇒ Chez le nouveau né on utilise 1ml de sang, et il faut éviter les ponctions capillaires du fait des risques de souillure et du fait qu'on ne recueille pas suffisamment de sang.

2.2.1.3- Le pus

⇒ Prélèvement

Il a été réalisé par le médecin, mais nous savons qu'il existe trois classes de prélèvements selon l'origine du pus.

- Classe I

Dans ce cas, le pus provient des zones profondes fermées et normalement stériles. Lors des prélèvements, la surface à prélever est désinfectée et le prélèvement est réalisé à l'aide d'une aiguille montée sur une seringue.

Le contenu de la seringue est ensuite expulsé dans un tube stérile, par contre s'il y a suspicion d'un germe anaérobie, on envoie directement la seringue avec l'aiguille encapuchonnée au laboratoire.

- Classe II

Ils proviennent des zones profondes, mais qui communiquent avec des surfaces possédant une flore commensale.

Le prélèvement est identique à celui de la Classe I, mais on prélève le plus profondément possible.

Mais on peut également réaliser le prélèvement au niveau de la communication avec l'extérieur après nettoyage de l'orifice interne et introduction d'un cathéter monte sur une seringue.

- Classe III

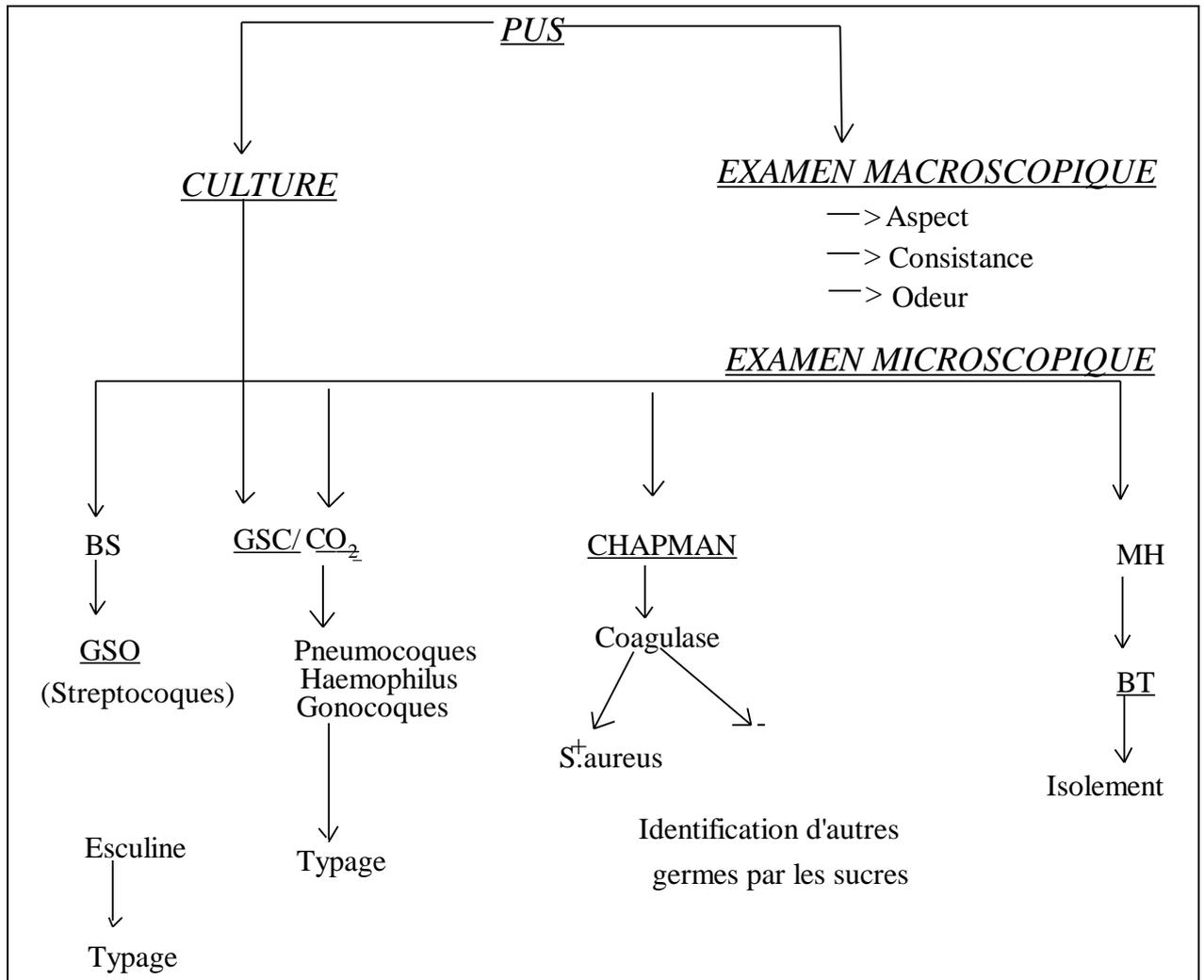
Les prélèvements proviennent des zones superficielles qui possèdent leur propre flore commensale.

Pou réaliser le prélèvement, il faut enlever par lavage la flore de surface et les débris cellulaires, ensuite on aspire à la poire, ou avec une aiguille montée sur une seringue, ou alors faire un écouvillonnage.

⇒ Les étapes de l'examen bactériologique du pus

Les étapes sont les suivantes:

- Un examen macroscopique
- Un examen microscopique après étalement du pus sur une lame et coloration au Gram et dans certains cas au Ziehl Nielsen
- Culture
- Identification
- Antibiogramme



2.2.2- Méthode de prélèvement et d'isolement des germes de l'atmosphère

Nous avons utilisé des boîtes de pétrie contenant différents milieux: GSC, GSO, CHAPMAN, MH, DCLS ou SS

Ces boîtes ont été placées en plusieurs endroits: sous les tables d'opération, sous les lits, à la crèche. Elles ont été maintenues ouvertes pendant 1 heure, avant d'être acheminées au laboratoire pour une incubation à 37°C pendant 24 heures, ce qui a permis l'isolement des germes.

2.2.3- Méthode de prélèvement et d'isolement des germes au niveau des mains du personnel et du matériel médical

Un écouvillon stérile imbibé d'eau physiologique a été frotté sur les mains du personnel, sans oublier les coins tels que les espaces interdigitaux.

Nous avons procédé de la même manière en ce qui concerne le matériel

médical (matériel d'anesthésie, stéthoscope, cathéter, perfuseur, ciseaux, plateaux etc.).

Les prélèvements étant réalisés, l'écouvillon a été placé dans un tube stérile et acheminé au laboratoire où il a été directement ensemencé dans les milieux de culture suivants:

- ⇒ bouillon au Thioglycolate de sodium, qui a permis la survie de tous les germes et la détermination du type respiratoire
- ⇒ Gélose EMB pour les *ENTEROBACTERIES*.
- ⇒ Gélose CHAPMAN pour les *STAPHYLOCOQUE*.
- ⇒ GSO pour les *STREPTOCOQUES*.

L'incubation s'est faite à 37°C pendant 24 heures sous la cloche et sous CO₂.

2.2.4- Identification des germes isolés chez les malades

Pour l'identification des espèces bactériennes, nous avons utilisé les méthodes d'identification en microplaques.

- ⇒ Pour les streptocoques

La galerie d'identification est composée de 12 substrats pour la mise en évidence d'enzymes et de la fermentation des sucres.

Une suspension dense de culture pure de bactéries prélevée sur une gélose est inoculée avec les milieux d'étude.

Après le temps d'incubation, la révélation se fera spontanément ou par adjonction de réactifs.

Les différents tests sont:

- la production d'acétoïne
- l'hydrolyse de l'esculine
- l'hydrolyse de l'arginine
- la croissance sur milieu hostile
- l'acidification de divers sucres tels que :
 - * le glucose
 - * le lactose
 - * l'arabinose
 - * le mannitol
 - * le tréhalose
 - * le sorbitol
 - * le sorbose
 - * le raffinose

- * l'inuline
- * le ribose

Tableau III: Lecture et interprétation des streptocoques

Test	Substrat	Réaction recherchée	Révélateur	Réaction			
				Positif		Négatif	
VP	glucose	production acétoïne	1 goutte de VP1 1 goutte de VP2 attendre 10 min	Rose- Rouge		Incolore	
ESC	Esculine	b-glucosidase		4H noir ou gris	24H noir	4H incolore ou jaune pâle	24H Incolore ou jaune pâle ou gris clair
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase		violet		jaune	
BHS	Croissance sur milieu hostile	Acidification		Jaune		orange	
ARAB	Arabinose						
MANN	Manitol						
SOR	Sorbitol						
TRE	Tréhalose						
RAF	Rafinose						
SORBO	Sorbose						
INU	Inuline						
LAC	Lactose						
RIB	Ribose						
AMI	Amidon						

⇒ Pour les Entérobactéries

- La plaque est constituée de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés destinés à la mise en évidence d'activités enzymatiques et de fermentation (oxydation) sucrées.

- Préparation de la plaque

* répartir dans chaque microtube 50µl de milieu

* déshydrater les milieux à l'étuve (42°C) en présence de dessicateur (gomme arabique) pendant 18 heures

* recouvrir la plaque d'un fil adhésif avant de mettre le couvercle

* mettre sous emballage avec un déshydratant

* conserver à +4°C ou 20°C

Ensemencement

Répartir 100ml d'une suspension d'opacité correspondant au point 0,5 de l'échelle Mac Farland.

Recouvrir d'huile de Paraffine les microtubes où sont recherchés les caractères biochimiques suivants :

- la fermentation des glucides
- la recherche de l'uréase
- la production de H₂S
- la recherche des décarboxylases

➤ Incubation

24 heures à 37°C (étuve) sur un plateau recouvert de papier buvard imbibé d'eau.

➤ lecture

Cette méthode donne lieu à des réactions colorées, dont la lecture se fait à l'oeil nu, éventuellement après addition d'un ou de plusieurs réactifs (voir tableau).

Tableau IV: Composition de la galerie d'identification des entérobactéries

Test	Substrat
VP	Glucose
PDA	Phényalanine
ONPG	O.Nitrophényl B-D-galactopyranoside
MAL	Malonate
CS	Citrate de sodium
RM	Glucose
IND	Tryptophane
UREE	Urée
SH ₂	Thiosulfate de sodium
NIT	Nitrate de potassium
ESC	Esculine
ADH	Arginine
ODC	Ornithine
LDC	Lysine
GLU	Glucose
MANN	Manitol
SOR	Sorbitol
SAC	Saccharose
INO	Inositol
LAC	Lactose

Tableau V: Identification des Entérobactéries

Test	Réactifs à ajouter	Interprétation des résultats	
		positif	négatif
GLU MAN LAC INO SAC SOR		Vert à jaune	Bleu
NIT	1 goutte d'acide sulfanilique + 1 goutte d'alphanaptylamine		
SH2		Précipité noir	Incolore
UREE		Rouge violacé	Jaune
IND		Anneau rouge	Anneau jaune
VP	1 goutte de KOH puis 1 goutte d'alphanaptol attendre 10 min avant lecture	Rouge	Incolore
RM	1 goutte de rouge de méthyl	Rouge	Jaune-orangé
CS		Bleu	Vert
MAL		Bleu	Jaune-vert
PDA	1 goutte de perchlorure de fer	Vert	Jaune
ONPG		Jaune	Incolore
ODC		Violet	Jaune
ADH		Violet	Jaune
LDC		Violet	Doré

⇒ Pour les staphylocoques

- La plaque est constituée de microtubes contenant des substrats, destinés à la mise en évidence d'activités enzymatiques et de fermentation sucrées.

Tbx' = composition de la galerie d'identification

Urée tryptophane

Milieu de Falkow

C'est le milieu pour la recherche des décarboxylases

* Test à l'ONPG.

Il concourt à la caractérisation de la β -galactosidase

Milieu de Clark et Lubs

Le but de son utilisation est la mise en évidence de l'acétoïne produite par certains staphylocoques.

* MEVAG = milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides :

- '' glucose
- '' tréhalose

- .. mannitol
- .. xylose
- .. saccharose
- .. Glycérol
- .. mannose
- .. lactose
- .. raffine

* Bouillon Muller-Hinton pour le test à la novobiocine à 3,2µg/ml

* Bouillon nitrate

- * Milieux complémentaires

C'est la gélose à l'ADN et le plasma citraté qui servent à la recherche de la production de la DNASE et de la coagulase.

- Préparation de la microplaque

75µl de chaque milieu sont déposés dans le puits correspondant au niveau de la microplaque de façon extemporanéé.

- Préparation de l'inoculum

Les souches conservées étaient régénérées dans un bouillon trypticase soja à 37°C pendant 4 heures avant d'être repiquées sur une gélose trypticase soja enrichie par 5% de sang de mouton qui permettait d'obtenir des colonies de taille plus importante. après 24 heures à 37°C à l'étuve. A partir de colonies bien isolées, et bien développées, la suspension bactérienne étant préparée en les délayant dans de l'eau physiologique dont le PH aura été ajusté à 7.

La turbidité de la suspension était ensuite ajustée à l'échelle 2 de l'étalon standard de Mac Farland au sulfate de Barium.

La suspension homogénéisée par vortexage était alors prête à être utilisée.

- Ensemencement et incubation

75µl de la suspension bactérienne préparée sont déposés dans chaque puits de la microplaque. La plaque était ensuite soumise à une légère agitation afin d'homogénéiser les milieux.

Les puits contenant l'urée et les décarboxylases étaient recouverts d'huile de paraffine afin de maintenir l'anaérobiose nécessaire aux réactions.

On déposait dans chaque puits de la microplaque préalablement stérilisée au four à micro-ondes, à l'aide d'une micropipette, 75µl de chaque milieu selon la disposition suivante

Tableau VI : Disposition de la microplaque pour l'identification des staphylocoques

Catégorie	Télase	Nitrite	Xylose	Sérum
Catégorie	Mélange	Lactose	Raffinose	-
Uréase	Agar d'oxyde	Gélatine d'oxyde	Tryptone d'oxyde	Végétal Rouge
Glucose ED glucose	Nitrite	Nitrite	-	-
-	-	-	-	-

- Lecture

Elle reposait sur le changement de coloration initiale des différents milieux. Pour la plupart des milieux, la lecture se faisait directement sans nécessité l'utilisation de réactifs. Mais pour la révélation par contre il fallait ajouter respectivement dans les puits contenant le VP et le nitrate les réactifs suivants:

- * une goutte de potasse à 40% puis une goutte d'alpha naphthol à 6%
- * une goutte d'acide sulfanilique à 0,8% puis une goutte d'alpha naphthylamine.

La lecture du nitrate doit se faire dans l'immédiat alors que celle du VP nécessite une réincubation de 10mn à 37°C à l'étuve.

Tableau VII : Lecture de la microméthode staphylocoques

Substrats	Milieux d'origine	Résultats	
		positif	négatif
Glucose Tréhalose Mannitol Xylose Saccharose Glycérol Mannose Lactose Raffinose TEMOIN	Rouge	Jaune	Rouge
UREE	Orangée	Violet	Orangée
ODC	Orangée	Violet	Jaune
ADH	Orangée	Violet	Jaune
TDEC	Orangée	Violet	Jaune
VP	Doré	Rouge framboise	Doré
ONPG	Incolore	Jaune citrin	Incolore
Novobiocine	Rouge	Jaune	Rouge
Nitrate	Doré	Rouge framboise	Doré

2.2.5- Sensibilité aux antibiotiques

2.2.5.1- Antibiogramme

La méthode utilisée était la méthode de diffusion en milieu gélosé.

La souche isolée était mise en suspension (Mac Farland 0,5) et ensuite mise en culture pendant 4 à 6 heures à 37°C.

On effectuait ensuite une dilution en fonction de la souche.

- *Entérobactéries et Pseudomonas*: 1/1000
- *Staphylocoques et Entérocoques*: 1/100
- *Streptocoques* : 1/10

Avec cette dilution on imbibait le milieu gélosé de Mueller Hinton (MH) préalablement préparé dans une boîte de Pétri. Les disques d'antibiotiques y étaient ensuite déposés et le tout était incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures. La lecture s'effectuait par mesure du diamètre d'inhibition de chaque disque.

Et ce diamètre était comparé avec celui figurant sur les abaques fournies par le fabricant de disque.

2.2.5.2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI par la méthode du E-Test (Epsillometer-Test)

C'est une technique de détermination de la CMI fondée sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel prédéfini de l'antibiotique à tester couvrant une zone de 15 dilutions allant de 0,016 à 256 mg/l ou de 0,002 à 32 mg/l en fonction des molécules

Il a été standardisé conformément aux normes du Comité National des Laboratoires Cliniques (NCCLS).

Le E-Test^R associe les caractéristiques des méthodes de diffusion et de dilution en milieu solide.

Les bandelettes sont des supports inertes, hydrophobes de 5 mm de large et de 50 mm de long. Elles sont appliquées sur la surface d'une gélose préalablement ensemencée avec la souche à étudier.

Après incubation, l'inhibition de la croissance bactérienne se traduit par la présence d'une ellipse dont les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI. Une échelle de lecture imprimée à la face supérieure de la bandelette, permet une interprétation rapide (lecture directe de la valeur de la CMI).

2.2.5.3- Mise en évidence de Béta-lactamase à spectre élargi ou étendu (BSE)

La recherche d'une BSE doit être effectuée systématiquement dès que l'on soupçonne son existence, à savoir pour une entérobactérie qui est susceptible d'en héberger, lorsqu'on observe à l'antibiogramme des sensibilités diminuées pour les céphalosporines hospitalières, telles céfotaxime, céftazidime, aztréonam.

Cette résistance s'effectue par la mise en évidence d'une synergie entre la bêta-lactamine testée et l'acide clavulanique. Pour cela, il faut placer au centre d'une gélose ensemencée avec la souche testée un disque d'amoxicilline acide clavulanique et à 30mm de ce disque (centre à centre) tout autour les disques de céfotaxime, céftazidime et aztréonam.

Si la souche produit une BSE, il y a une augmentation très nette (supérieure ou égale à 4mm) du rayon d'inhibition autour de la β -lactamine et en regard du disque contenant l'acide clavulanique: ceci est classiquement décrit comme une image en «Bouchon de Champagne».

2.2.5.4- Recherche de la Méthicillino résistance

9 Principe

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

9 Mode opératoire

- Technique de la diffusion sur gélose

Pour favoriser l'expression de la méthicillino-résistance, un disque d'Oxacilline a été placé sur une boîte de gélose MH. Dans ce cas une préparation d'inoculum faite à partir de la culture et d'eau physiologique a été coulée en nappe et avant dépôt du disque d'oxacilline. L'incubation a été faite à 30°C pendant 24 heures.

L'expression de la résistance hétérogène est matérialiser par la présence de colonies plus ou moins nombreuses à l'intérieur du cercle d'inhibition.

En pratique sur l'ABG il n'est utile de tester qu'un seul disque: l'oxacilline. La résistance hétérogène s'exprime mal avec les disques de CPS (céphalosporine) il est donc inutile de les tester.

- Technique de la dilution en gélose (Screening)

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

Cette technique consistant à préparer un inoculum dense (de turbidité équivalente à 0,5 Mac Farland) dans de l'eau physiologique à partir d'une culture de 24 heures.

Un ensemencement par spot a été effectué sur la gélose MH contenant de l'oxacilline (6mg/l).

Après une incubation à 30°C pendant 24 heures, une souche présentant une résistance hétérogène pousse au niveau du point d'inoculum.

9 Interprétation des résultats

- *S aureus*

La pénicilline répond pour les aminosides, les carboxypénicillines et les acyluréidopénicillines.

L'oxacilline répond pour les 4 bêtalactamines

Les phénotypes impossibles sont :

Méthi R, Pénicilline S: il ne s'agit pas d'une souche 4 de *S aureus*.

Méthi R céfalotine sensible : sachant que pour *S aureus* la résistance à la méthicilline est croisée à celle de bêtalactamines.

- Autres staphylocoques

Plusieurs aspects peuvent être observés:

Méthi R céfalotine R: se reporter au cas de *S aureus*.

Méthi R céfalotine S: le phénotype est possible mais la sensibilité aux CPS doit être confirmée par la détermination des CMI pour toutes les souches isolées d'infections sévères.

- Autres phénotypes: certains staphylocoques ont un bas niveau de résistance (diamètre 12-19mm) à l'oxacilline. Ils se portent comme pleinement sensibles à la céfalotine et parfois à la pénicilline G.

II.3- Interprétation des résultats par le WHONET IV

Principe WHONET IV

L'analyse des résultats a été effectuée par le logiciel Whonet IV. Le Whonet est une série de programmes informatiques qui facilitent la gestion des résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques de germes bactériens. Des programmes d'analyse utilisant ces données aident à la meilleure compréhension de l'épidémiologie des résistances aux antibiotiques et le développement de pratiques de prescriptions rationnelles et de procédures de contrôle des infections. Ces données pourront être employées à un niveau local et pourront aider les laboratoires dans la sélection des antibiotiques en reconnaissant et en soulevant des problèmes de résistance au plan local et en identifiant des problèmes de contrôle de qualité.

Le but du programme Whonet est l'établissement de réseaux nationaux et internationaux de surveillance continue de la résistance sur une échelle assez large.

RESULTATS ET COMMENTAIRES

I REPARTITION DES SOUCHES EN PROVENANCE DE LA MATERNITE (MALADES, ATMOSPHERE, MANUPORTAGE)

Nous avons:

- 190 souches provenant des malades,
- 22 souches provenant de l'atmosphère,
- 19 souches provenant du manuportage

Tableau VIII: Répartition des souches en fonction des terrains

Terrain	Nombre de souches	Pourcentage
Malades	190	82%
Atmosphère	22	10%
Manuportage	19	8%

II- REPARTITION DES SOUCHES EN FONCTION DES ESPECES

2.1- Répartition des souches des malades

2.1.1- Répartition globale

Les germes que nous avons isolés sont très nombreux, avec cependant une prédominance de *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *pneumoniae* *Staphylococcus aureus*.

Tableau IX : Répartition globale des souches chez les malades

ESPECES BACTERIENNES		NOMBRE	POURCENTAGE
Cocci Gram+	Staphylocoque	> S.aureus	16 8,42
		> S.epidermidis	02 1,05
		> S.hominis	02 1,05
		> S.Sp	05 2,63
	Streptocoques	09 4,74	
Cocci Gram-	Escherichia Coli	68 35,79	
	Klebsiella pneumoniae	57 30	
	Proteus mirabilis	04 2,10	
	Proteus vulganis	01 0,53	
	Pseudomonas aeruginosa	05 2,63	
	Enterobacter	> E.aerogenes	08 4,21
		> E.agglomerans	03 1,58
		> E.cloacal	06 3,16
	Morganella morganii	02 1,05	
Haemophilus para influenzae	01 0,53		
Bacille Gram+ sporulé	Clostridium perfringes	01 0,53	

2.1.2- Répartition par produit pathologique

Les *Enterobactéries* sont fortement représentés avec surtout *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau X: Répartition des souches par produit pathologique

ESPECES	PUS	SANG	URINES	LIQUIDE AMNIOTIQUE
Escherichia Coli	28		40	
Klebsiella pneumoniae	10	8	5	
Staphylococcus aureus	11	2	3	
Streptocoques	6		3	
Proteus mirabilis	1		3	
Proteus vulgans	1			
Pseudomonas aeruginosa	3		1	
Haemophilus parainfluenzae	1			
Hafnia aloci	1			
Clostridium perfringens	1			
Morganella morganii				2
Enterobacter	2	2	2	

2.2- Répartition des souches de l'atmosphère

Tableau XI: Répartition des souches de l'atmosphère

	ESPECES	NOMBRE	POURCENTAGE(%)
Cocci Gram+	Staphylococcus aureus	8	36,32
	Staphylococcus saprophylicus	1	4,54
	Staphylococcus haemolyticus	1	4,54
	Staphylococcus capilis capilis	2	9,09
	Staphylococcus auricularis	1	4,54
	Staphylococcus xylons	1	4,54
Bacilles Gram-	Escherichia coli	2	9,09
	Klebsiella pneumoniae	1	4,54
	Enterobacter aerogenes	1	4,54
	Providencia rettgeri	1	4,54
	Providencia alcalifaciens	1	4,54
	Morganella morganii	1	4,54
	Pseudomonas aeruginosa	1	4,54

2.3- Répartition des souches du manuportage

Tableau XII: Répartition des souches du manuportage

	ESPECES	NOMBRE	POURCENTAGE(%)
Cocci Gram+	Staphylococcus aureus	3	24,99
	Staphylococcus saprophylicus	1	8,33
	Staphylococcus haemolyticus	2	16,66
	Staphylococcus epidermidis	1	8,33
	Staphylococcus auricularis	1	8,33
	Enterococcus faecalis	1	8,33
Bacilles Gram-	Escherichia coli	1	8,33
	Gibacter diversus	1	8,33
	Providencia	1	8,33

III- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

3.1- Profil de sensibilité par l'antibiogramme des principaux germes isolés des malades

3.1.1- Sensibilité des souches d'Escherichia coli

Les souches isolées sont apparues sensibles aux Céphalosporines de 3ème génération, à l'Imipénème et à l'Aztréonam; par contre, l'Ampicilline (67%), la Céfalotine (42%) et l'association Amoxicilline+Acide Clavulanique (19%) se sont montrés relativement inactifs (voir tableau XIII).

Même si les bêtalactamines demeurent les Antibiotiques de choix dans les infections dues à *Escherichia coli*, les Aminosides notamment la Gentamicine (92%), l'Amikacine (91%), la Kanamycine (100%), les Quinolones avec la Ciprofloxacine (100%), malgré leur coût élevé, se sont avérés actifs sur les souches isolées.(voir figures 4 à 22).

3.1.2- Sensibilité des souches de Klebsiella pneumoniae

Nous avons observé une sensibilité à l'Inipénème (100%), au Céphalosporine de 2^{ème} génération notamment la Céfoxitine (67%), mais également à l'Amikacine (86%) et à des taux plus faibles à la Gentamycine (37%). Cependant, nous avons noté des résistances à certaines bêtalactamines: Ampiciline (98%), Cefalotine (83%) (C1G) ; aux cyclines : Doxycycline (67%).(voir tableau XIV, figures 23 à 33).

Tableau XIII : Profil de Sensibilité des souches de Escherichia coli

Tableau XIV : Profil de Sensibilité des souches de *Klebsiella pneumoniae*

3.1.3- Sensibilité des souches de Staphylocoque

Les souches de staphylocoques isolées se sont révélées très sensibles à certains antibiotiques, notamment l'Oxacilline (100%), la Cefalotine (100%), la Cefotaxime (100%), la Ceftriaxone (60%), la Gentamicine (100%), l'Amikacine (86%), la Kanamycine (100%), la Ciprofloxacine (75%), le Cotrimoxazol (75%), la Vancomycine (100%) et l'Erythromycine.

Mais des taux de résistance ont été rencontrés avec la Penicilline G (100%), l'Ampicilline (100%), la Doxycycline (40%), la Tetracycline (50%).

Staphylococcus aureus qui est la souche la plus représentée des Staphylocoques montre un profil identique à celui que nous avons décrit (voir tableaux XV, XVI et voir figure 34 à 48).

3.1.4- Sensibilité des souches de Streptocoques

Les souches de streptocoque sont sensibles aux bêtalactamines, surtout à la Penicilline G (100%), à l'association Amoxicilline+Acide Clavulanique (100%), à la Cefalotine (100%) à la Vancomycine (100%), à l'Erythromycine (100%) .

Cependant des taux de résistance ont été observés avec l'Amikacine (100%).[voir tableaux XVII et XVIII].

Tableau :XV Profil de Sensibilité des souches de Staphylococcus sp.

Tableau :XVI Profil de Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus

Tableau :XVII Profil de Sensibilité des souches de Streptocoques isolées d'urines

Tableau :XVIII Profil de Sensibilité des souches de Streptocoques isolées de pus

3.1.5- Sensibilité des souches d'Enterobacter

Les espèces du genre Enterobacter ont montré une sensibilité: à la Gentamicine, l'Amikacine, à l'Imipénème.

Par contre une résistance a été observée avec l'Ampicilline, la Céphalotine, la Cefoxitine (voir tableaux XIX, XX, XXI) .

3.1.6- Sensibilité des souches de Proteus

Les souches isolées ont été inhibées par les Céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération, par l'Imipénème et l'Aztreonam.

Et à côté de ces bêtalactamines, nous avons noté une sensibilité à la Gentamycine, à la Kanamycine, à l'Amikacine, à la Tobramycine, mais également vis-à-vis des quinolones systémiques notamment la Ciprofloxacine.

Ce sont des souches qui se sont montrées très résistantes aux cyclines.
(voir tableaux XXII) .

Tableau : XIX Profil de Sensibilité des souches d'Enterobacter
Isolées de Pus

Tableau : XX Profil de Sensibilité des souches d'Enterobacter
Isolées d'Urines

Tableau : XXI Profil de Sensibilité des souches d'Enterobacter isolées d'hémocultures

Tableau : XXII Profil de Sensibilité des souches de *Proteus mirabilis*

3.1.7- Sensibilité des souches de *Morganella Morganii*

Les souches de *Morganella* se sont révélées très sensibles à l'Amikacine, à l'Imipéném, à la cefotaxime, à la ceftioxime.

Notons cependant la résistance à la plupart des Penicillines, à la Doxycycline, à la cefalotine (voir tableaux XXIII).

Tableau :XXXIII Profil de Sensibilité des souches de *Morganella morganii* ss. *morganii*

3.1.8- Sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

Les ATB qui se sont révélés actifs sur ces souches sont: la Ticarcilline, les Cephalosporines 3^{ème} génération, la Gentamicine, l'Amikacime, la Kanamycine.

Mais cette *Pseudomonas* s'est montrée résistante à d'autres bêtalactamines telles que la Ceftazidime, l'Aztreonam (voir tableaux XXIV et figure 49 à 59).

Tableau :XXIV Profil de Sensibilité des souches de Pseudomonas aeruginosa

Ainsi l'antibiogramme a permis d'obtenir les différents antibiotiques susceptibles d'être actifs, ou non vis à vis de tel ou tel germe.

Il existe une autre méthode de détection de sensibilité: il s'agit de la méthode du E-Test qui nous a permis d'avoir une meilleure approche sur la sensibilité des germes.

3.2- Profil de sensibilité des germes du Manuportage

3.2.1- Staphylocoques

Nous avons observé une prédominance des souches de *Staphylococcus aureus* Méthi R donc résistances à la pénicilline (6 souches) au niveau de l'atmosphère.

Tableau XIV: Phénotypes de résistance des Staphylocoques

	MANU PORTAGE			ATMOSPHERE		
	Rif ^G	OXA	Nombre	Rif ^G	OXA	Nombre
<i>S aureus</i>	R	S	1	R	R	6
	R	R	2	S	S	2
<i>Septimus</i>	R	S	1	-	-	-
<i>Shantylus</i>	R	R	1	R	S	1
	R	S	1	-	-	-
<i>Sylosis</i>	-	-	-	R	R	1
<i>Sauralis</i>	R	R	1	R	R	1
	R	S	1	-	-	-
<i>Saprophytus</i>	S	S	1	R	R	1
<i>Scapiscapitis</i>	-	-	-	R	R	1

3.2.2- Streptocoques

La souche d'Entérocoque isolée au niveau de l'atmosphère de la Gynécologie Obstétrique est apparue sensible à la Rifampicine, à la Gentamycine et à la Vancomycine.

Une bonne activité de l'Ampicilline a été notée avec les Streptocoques.

Tableau XX: Phénotypes des souches de Streptocoques

	EFACIS		SEPT COCUS_{sp}	
MNUCKIACE	AM	R	-	
	OA	R	-	
	GO	R	-	
	GN	R	-	
	OL	R	-	
	OP	R	-	
	RA	R	-	
	VA	S	-	

3.3- Sensibilité aux antibiotiques par la méthode du E-Test

Elle est basée sur la détermination de la CMI 50 et la CMI 90.

Ainsi ont pu être testés par cette méthode: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, les *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*.

Il faudra noter que ce test a pu être réalisé pour chaque espèce en fonction du produit pathologique.

3.3.1- Les souches d'*Escherichia coli*

Nous en avons isolé une (1) dans le sang, deux (2) dans les urines.

3.3.1.1- Dans le sang (Voir Tableau XXVII)

Nous avons obtenu un profil presque identique à celui obtenu au cours de l'antibiogramme global de *E. coli*.

Les différences se situent au niveau de l'association Amoxicilline+Acide Clavulanique pour lequel nous avons observé une sensibilité de (100%), et de la Céphalotine pour laquelle nous avons observé une résistance de (100%).

E. Coli s'est montré sensible à la Gentamicine (100%), à l'Amikacine (100%), à la Ciprofloxacine (100%).

La Pipéracilline et le Cotrimoxazol se sont montrés inactifs.

3.3.1.2- Dans les urines (Voir tableau XXVIII)

Nous avons le même profil que dans le cas du sang, avec cependant 50% de sensibilité à l'association amoxicilline/Ac clavulanique, 50% de sensibilité à la pipéracilline et 50% de sensibilité au Cotrimoxazol.

Ces résultats nous ont permis de dire que l'activité d'un antibiotique peut varier en fonction du produit pathologique pour une même espèce.

En prenant le cas du Cotrimoxazol , nous nous sommes aperçue que sa sensibilité s'était modifiée selon qu'on soit dans les urines, le sang ou le pus.

En effet, nous avons obtenu une résistance de 100% dans le cas des souches du sang, une sensibilité de 50% dans les urines, et une sensibilité de 67% dans le cas des germes du pus.

Tableau :XXVII Profil de Sensibilité par E-test des souches Escherichia coli isolées d'hémocultures

.

Tableau : XXVIII: Profil de Sensibilité par E-test des souches Escherichia coli isolées d'Urines

Tableau :XXIX Profil de Sensibilité par E-test des souches Klebsiella pneumoniae isolées d'hémocultures

Tableau :XXX Profil de Sensibilité par E-test des souches *Klebsiella pneumoniae* isolées de Pus

Tableau :XXXI Profil de Sensibilité par E-test des souches *Klebsiella pneumoniae* isolées d'urines

Tableau :XXXII :Profil de Sensibilité par E-test des souches Staphylococcus aureus

Tableau XXXIII : Profil de Sensibilité par E-test des souches d'Enterobacter

3.3.2- Les souches de *Klebsiella pneumoniae* (Voir tableaux XXIX, XXX, XXXI)

Nous avons testés 6 souches qui se sont réparties de la manière suivante: 1 dans le sang , 3 dans le pus, 2 dans les urines.

Nous avons recherché la sensibilité des *Klebsiella pneumoniae*:

- aux bêtalactamines .

. L'Amoxicilline+Acide Clavulanique s'est révélé actif sur les souches urinaires et celles du pus, avec des taux de 100% dans les deux cas. Il s'est révélé inactif pour les souches du sang.

. Les souches de *Klebsiella pneumoniae* se sont montrées sensibles aux Céphalosporines: la Céphotaxime (100%) dans les trois produits pathologiques, la Céfoxitine (100%),

la Céfalotine (50% dans les urines, 67% dans le pus) mais résistante dans le sang.

. La Piperacilline s'est montrée active, mais à des taux assez faibles (50% pour les souches urinaires, 67% pour les souches du pus).

-Aux Aminosides

Nous avons testé la Gentamicine et l'Amikacine.

. L'Amikacine s'est révélée active sur les six souches avec un taux de 100% dans tous les cas. Par contre la Gentamicine s'est montrée très active sur les souches urinaires et purulentes avec des taux de 100% respectivement, et totalement inactive sur les souches sanguicoles.

- Aux Sulfamides

Nous avons recherché la sensibilité des *Klebsiella pneumoniae* à un Sulfamide: il s'agit du cotrimoxazol qui s'est révélé très peu sensible aux souches du pus avec un taux de 33% ; moyennement sensible aux souches urinaires avec un taux de 50% ; et très active sur les souches du sang avec un taux de 100%.

- Aux Quinolones avec un seul ATB testé, qui s'est révélé actif à 100%.

Donc par rapport aux résultats de l'antibiogramme, le E-Test s'est montré plus complet pour *Klebsiella pneumoniae*.

3.3.3- Les souches de *Staphylococcus aureus* (Voir Tableau XXXII)

Sept (7) antibiotiques se sont révélés totalement actifs, à savoir: l'association Amoxicilline+Acide Clavulanique (100%) = famille des bêtalactamines.

l'Oxacilline (67%), ce qui conduit à dire que ce sont des souches Methicillino sensibles,

la Gentacine (67%) = famille des Animosides,

la Ciprofloxacine (100%) = famille des Quinolones,

la Rifampine (100%) = Rifampicine,

La Vancomycine (100%) = Glycopeptide,

l'Erytromycine (83%) = Macrolides.

Notons au passage la forte résistance observée avec la Penicilline G et le Cotrimoxazol (résistance naturelle).

3.3.4- Les souches d'*Enterobacter* (Voir tableau XXXIII)

Nous avons noté une sensibilité

aux Cephalosporines de 3^{ème} générations: la Cefotaxime (75%) avec une résistance totale aux Cephalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération, à la Piperacilline (100%) , à la Gentamicine (100%) et à l'Amikacine (100%), à la Ciprofloxacine (100%).

DISCUSSION

Entre Janvier 1997 et Mars 1998, 190 souches bactériennes ont été isolées chez des malades hospitalisés au service de gynécologie obstétricale et particulièrement à la réanimation et à la crèche.

Au cours de cette même période, certaines des espèces isolées chez les malades ont été retrouvées dans l'atmosphère et sur le manuportage respectivement 22 et 19.

Ces germes sont responsables des infections nosocomiales qui peuvent prendre une forme épidémique.

Ces infections peuvent être causées par des patients porteurs antérieurement au niveau de leur flore des germes multirésistants qui deviennent rapidement infectants sous l'influence de certains facteurs et surtout devant une baisse des défenses de l'organisme de l'hôte.

La prévalence de ces infections nosocomiales et leur gravité nécessitent une bonne connaissance du comportement des germes vis-à-vis des différents antibiotiques afin de pouvoir mener une lutte rationnelle contre elles.

Et pour cela nous ferons une étude comparative de nos résultats et ceux obtenus par d'autres travaux antérieurs.

I. SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES GERMES ISOLEES CHEZ LES MALADES

1.1- Sensibilité des bacilles Gram négatif les plus fréquemment isolés

1.1.1- Escherichia coli

C'est l'espèce la plus isolée avec un nombre de 68 souches.

Escherichia coli occupe ainsi une grande place au sein des infections et est à l'origine de 70% des cas d'infections urinaires communautaires (16, 66).

⇒ *Les bêtalactamines*

La sensibilité d'*Escherichia coli* aux Bêtalactamines varie selon les antibiotiques de cette famille.

Le taux de résistance à l'Ampicilline est de 67%. Diene J.F. (20) a également trouvé un taux de résistance de 65.4%, ce qui est très proche de nos résultats.

Pour une meilleure appréciation de nos résultats notons qu'ils se rapprochent de ceux décrits par la littérature africaine.

En effet, Koumaré et Al ont obtenu 68 à 89% de résistance de *Escherichia coli* de 1980 à 1991.

Au Bénin, ce taux était de 87% en 1992 dans l'étude de Anagonou et Al. Elle variait entre 65% et 87% en 1992 au CHNU de Cotonou.

Des travaux effectués à Brazzaville en 1986 ont donné 88.1% et des chiffres presque identiques, sinon très proches: 81% et 84% ont été observés respectivement à Abidjan et à Lomé en 1989.

Skakoat à Dakar entre 1982 et 1983 démontre 75,7% de résistance (3, 4, 53).

Voilà qu'aujourd'hui, nous notons 67% de résistance à la maternité de l'HALD de Dakar au Sénégal confirmant la persistance d'un tel phénomène, et pourtant une étude française récente. de De Nouy a montré un taux de résistance entre 24 et 33.6% de 1986 à 1993 à l'Ampicilline (17)

L'association Amoxicilline+Acide Clavulamique s'est montrée inactive avec un taux de résistance de 19%. Mais d'après certains travaux réalisés ce chiffre a varié. Ainsi en 1992 dans l'enquête de Pinchon et Al, la proportion de souches résistantes était de 23%, alors que Weber et Al avaient signalé une fréquence de résistance de 34.4% au cours de la même année (1992). De Nouy et Al ont trouvé des pourcentages de résistance beaucoup plus bas 4,8% et 9% de 1986 à 1993 (53, 54, 66).

Tandis que SY K. a obtenu un taux de résistance de 34% (61).

Cette résistance à l'Amoxicilline + Acide Clavulamique nous a permis d'émettre l'hypothèse d'une baisse de l'activité des bêtalactamines inhibiteurs des bêtalactamases qui peut être due soit à la sécrétion de penicillinase hyperproduite, soit à l'inactivation de l'inhibiteur à son tour (61).

* A côté de Penicillines, nous avons les Cephalosporines qui se sont avérées très efficaces, notamment les Cephalosporines de 3^{ème} génération: la Cefotaxime (100%), Ceftriaxone (100%), la Ceftazidime (92%).

D'autres Cephalosporines se sont montrées sensibles également, mais à des taux plus faibles: Cefalotine (58%), Cefoxitine (89%).

Ces résultats sont en partie confirmés par les travaux de Ndiaye Y.K. (47) qui a obtenu une sensibilité de 100% à la Ceftriaxone.

⇒ *Les Aminosides*

Ils sont efficaces sur *Escherichia coli* surtout la Gentamicine (92% de sensibilité) et l'Amikacine (91% de sensibilité).

⇒ *Les Quinolones*

Avec comme représentant la Ciprofloxacine avec 100% de sensibilité. Ces mêmes résultats ont été obtenus en 1987-1988 et exposés par Soumaré Y. R. en 1989 (60).

1.1.2- *Klebsiella pneumoniae*

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* se sont révélées sensibles aux Aminosides dont deux ont été testés. Il s'agit de l'Amikacine et la gentamicine. Et c'est surtout l'Amikacine qui s'est révélée être la plus active. Touré Nd. C. et Soumaré Y. R. avaient obtenu des résultats similaires (64, 60).

En effet des résistances à la gentamicine ont été observées sur les *Klebsiella pneumoniae* provenant du sang. Et pourtant des travaux menés en France rapportent une résistance nulle pour ces deux antibiotiques.

Leur efficacité a également été signalée au cours d'autres études en France, au

Bénin et à Dakar (3, 33, 47, 48, 54).

Cependant des résistances à la Gentamicine (99%) ont pu être observées en 1989 à l'HALD ce qui confirme la résistance que nous avons observée, essentiellement sur les souches à l'origine de bactériémie.

Pour expliquer cette résistance, certains auteurs ont montré l'existence d'un facteur de résistance (RTF) à la Gentamicine transférable, transmissible par conjugaison dans une même espèce et d'une espèce à l'autre (50, 56).

* Aux bêtalactamines

Les souches sont sensibles à l'association Amoxicilline + acide clavulanique, mais l'Amoxicilline utilisée seule est inactive, ainsi que la Ticarcilline.

Ce phénomène de résistance s'explique par le fait que *Klebsiella pneumoniae* est sécrétrice de bêtalactamases, donc résiste aux bêtalactamines, d'où la nécessité d'associer un inhibiteur des bêtalactamases comme l'acide clavulanique.

Naturellement *Klebsiella pneumoniae* est résistant aux amino et carboxypenicillines (résistance naturelle).

A côté des Penicillines, *Klebsiella pneumoniae* s'est montré sensible aux Céphalosporines notamment: la Cefotaxime (100%), Céphalosporine de 3^{ème} génération; la Céfoxitine (C1G); et faiblement sensible à la Céfalotine car une résistance fut observée dans notre cas chez les espèces isolées d'hémocultures

Déjà en 1967 une résistance à la Cefalotine à une concentration de 10 microgrammes par ml a fait son apparition dans le monde (52).

* Aux Quinolones

Nous avons testé la Ciprofloxacine, qui est une Quinolone récente à spectre de diffusion tissulaire très large permettant d'atteindre des concentrations élevées dans de nombreux organes. La sensibilité obtenue est de 100%.

* Aux Sulfamides

Klebsiella pneumoniae est sensible à l'association synergique Trimethoprime+Sulfamethoxazole = cotrimoxazole qui possède un large spectre et diffuse bien dans les différents organes et tissus.

Cependant nous avons observé une variation des taux de sensibilité selon l'origine de la souche: 33% dans le pus, 50% dans les urines et 100% dans le sang.

1.1.3- Les Enterobacter

⇒ *Les bêtalactamines*

Ils sont très sensibles aux Cephalosporines de 3^{ème} génération avec comme représentant la Cefotaxime (75% de sensibilité). Par contre les céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération et l'association Amoxicilline + acide clavulanique sont restées inactives.

⇒ *Les Aminosides*

Nous Avons 100% de sensibilité pour la Gentamicine qui est le chef de fil et l'Amikacine.

⇒ *Les Quinolones*

Nous avons obtenu 100% de sensibilité à la Ciprofloxacine.

1.1.4- Pseudomonas aeruginosa

C'est la bactérie la plus importante du groupe des Bacilles Gram- non fermentaires. Son pouvoir pathogène potentiel, sa multirésistance font de cette bactérie un véritable problème thérapeutique (36).

En effet elle s'est montrée résistante à la plupart des antibiotiques testés, notamment aux Amino Penicillines et aux Céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération. Par contre, elle est sensible aux Cephalosporines de 3^{ème} génération.

La résistance des Pseudomonas aux bêtalactamines est due à la production d'une bêtalactamase, mais elle peut également être due à une diminution de la perméabilité de la paroi membraneuse (62, 39).

L'Amikacine et la Gentamicine se sont révélés sensibles avec des taux de 67% chacune.

1.2- Sensibilité des Cocci Gram (+)

1.2.1- *Staphylococcus aureus*

Nous avons isolés au cours de ce travail des Staphylocoques avec une prédominance notoire de *Staphylococcus aureus*, d'où l'intérêt d'étudier correctement leur sensibilité aux antibiotiques.

Ceci nous a été donc permis grâce à l'antibiogramme et au E.Test, de constater une bonne activité de l'association Amoxicilline+Acide Clavulanique (100%), à l'Amoxicilline (67%), à la Gentamicine (100%), à la Rifampime (100%), à la Vancomycine (100%), à l'Erythromycine (83%).

Nous avons ainsi un grand choix d'antibiotiques vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, mais il est également important de noter des taux élevés de résistance au Cotrimoxazol et à la Pénicilline G.

La résistance à la Pénicilline G serait due à la sécrétion de Pénicillinase par *Staphylococcus aureus*

D'ailleurs, des études réalisées en France ont révélé jusqu'à 100% de souches de Staphylocoques sécrétant une Pénicillinase (2).

A Dakar, une étude conduite par Touré A. a mis en évidence un taux de sécrétion de bêtalactamases de 82% par les Staphylocoques (63).

1.2.2- *Streptocouques*

Nous avons fait une étude globale de ces Streptocoques du fait de la diversité des espèces et du peu de nombre qui fut isolé.

* Ainsi nous avons observé une sensibilité de 100% à la Pénicilline G qui est considérée par de nombreux bactériologistes comme les ATB de choix dans le traitement et la prophylaxie des infections à Streptocoques (18, 22, 65).

* Ces Streptocoques se sont révélés sensibles à l'association Amoxicilline Acide clavulanique, à la Cefalotine, à la Vancomycine, à l'Erythromycine.

* Nous avons obtenu des résistances de 100% à l'Amikacine.
Cette résistance nous ne sommes pas les premiers à l'avoir observée.

En effet, 80% de résistance à l'Amikacine a été observée en 1996 (61), 25% en 1983 (65), 69% en 1995 à l'HALD (6).

RECOMMANDATIONS

Les infections nosocomiales constituent un véritable problème de santé publique qu'il faut nécessairement combattre, afin d'éviter au maximum les dégâts dont elles sont responsables.

Pour mener à bien ce combat, il faudra tenir compte de quatre aspects fondamentaux à savoir:

- les conditions d'hygiène
- la chimioprophylaxie
- l'installation d'un comité de lutte contre les infections nosocomiales
- l'antibiothérapie sur laquelle nous insisterons particulièrement.

I- LES CONDITIONS D'HYGIENE

1.1- Le personnel hospitalier

Pour le personnel, les gestes et les procédures iatrogènes nécessitent un maximum d'asepsie.

Il doit être exigé au personnel soignant, le port de gants stérils avant tout acte médical, et le lavage des mains après l'intervention.

Avant d'entrer au niveau de la crèche, le personnel auxiliaire (balayeurs, cuisiniers, etc...) doivent se laver les mains et revêtir une blouse propre dont ils débarrasseront au moment de quitter la salle.

1.2- Les visiteurs

Il faut une éducation stricte de ces visiteurs à savoir:

- un respect des heures de visite
- les visites interdites aux enfants

A ce titre, l'utilisation d'affiches, de photos, de dessins, peut être d'un grand apport à cette éducation des visiteurs, mais également des malades.

1.3- Le malade

Il doit veiller personnellement à son bien être afin d'éviter l'infection, et pour cela, il lui faudra prêter une attention particulière à son hygiène corporelle et vestimentaire et à la désinfection de tous les objets qu'il utilise.

1.4- L'environnement hospitalier

Les salles d'hospitalisation, les salles de soin et les sanitaires doivent être entretenus quotidiennement en utilisant des désinfectants adéquats.

Afin de prévenir l'aérobio-contamination, l'idéal serait de renouveler convenablement l'air de la zone à risque avec de l'air dépourvu de bactéries donc filtré (68)

Le matériel médical doit être utilisé avec un maximum d'asepsie.

II- LA CHIMIOPROPHYLAXIE

Elle consiste à utiliser des antiseptiques et des désinfectants pour réduire les contaminations.

Une bonne sensibilité des souches nosocomiales au nitrate d'argent, et une résistance des bacilles à Gram- au chlorure mercurique ont été démontrées.

Les sels d'argent sont utilisés comme antiseptique oculaire chez le nouveau-né, et les sels de mercure comme antiseptique de l'appareil génital de la femme.

Devant une résistance des bacilles Gram- au chlorure mercurique, l'hypochlorite et les dérivés iodés peuvent être utilisés à sa place (44).

III- INSTALLATION D'UN COMITE DE LUTTE CONTRE LES INFECTIONS NOSOCOMIALES

Ceci permettrait de faire respecter toutes les mesures exigées et de surveiller l'écologie bactérienne.

Signalons qu'en 1994, le Centre Informatique de l'Hôpital Cantonal Universitaire de Genève a développé un système d'alertes applicables au contrôle de l'infection hospitalière (57).

IV- L'ANTIBIOTHERAPIE

L'antibiothérapie joue un rôle déterminant dans le devenir du germe qui pénètre dans l'organisme.

Une mauvaise antibiothérapie peut mener à la résistance du germe et donc à une généralisation de l'infection.

Il faut entendre par antibiothérapie: - l'Antibioprophylaxie
 - l'Antibiothérapie curative.

4.1- L'antibioprophylaxie

L'Antibioprophylaxie a pour but de réduire le risque infectieux chez les patients en état près ou post opératoire. Elle doit être systématique et nécessite une bonne connaissance des germes présents dans l'atmosphère, et sur le manuportage, mais également leur sensibilité aux antibiotiques.

A ce sujet, la Gentamicine, la Rifampicine et la Vancomycine se sont révélées efficaces sur les germes isolés. Cependant, ces produits doivent être utilisés rationnellement afin d'éviter les risques de résistance.

4.2- L'antibiothérapie curative

Il s'agit d'un traitement des infections nosocomiales orienté par un examen cytbactériologique du produit pathologique, qui permet l'identification des germes et la détermination de leur profil de sensibilité aux antibiotiques.

Devant des infections sévères qui ne peuvent pas attendre les résultats du laboratoire, le clinicien peut établir un schéma thérapeutique, cependant, il faut éviter l'association d'antibiotiques bactéricide et bactériostatique, car elle entraîne la résistance du germe dans l'organisme.

Cette présente étude nous a donc permis d'établir un schéma thérapeutique en tenant compte de la bactérie, de l'hôte et de la pharmacocinétique des différents antibiotiques testés.

4.2.1- Thérapeutiques des infections dues aux bacilles Gram négatif (*Escherichia coli* , *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*)

Les antibiotiques qui se sont révélés actifs sont les

- Les Aminosides (Amikacine) avec une demi-vie de 6 à 24 heures, une bonne diffusion tissulaire, et une élimination rénale.

Ils sont contre indiqués chez la femme enceinte et chez le sujet aveugle.

- Les Quinolones (Ciprofloxacine) qui ont une demi-vie de 8 à 12 heures, une bonne diffusion tissulaire notamment (parenchyme pulmonaire, os, prostate), un métabolisme hépatique, une élimination hépatique et rénale.

Ils sont contre indiqués en cas d'allergie, en cas d'insuffisance hépatique, en cas de déficit en G-6-P chez la femme enceinte, chez l'enfant de moins de 15 ans.

- Les bétalactamines avec:

* les Céphalosporines de 3^e génération qui sont des antibiotiques à large spectre avec une demi-vie variant de 1 à 8 heures avec une élimination surtout urinaire mais également biliaire et une bonne diffusion dans l'organisme.

* L'Imipénème avec une demi-vie de 1 heure, une élimination urinaire, une bonne diffusion tissulaire.

* L'Aztreonam avec une demi-vie de 6 à 8 heures.

Ces bétalactamines sont contre indiqués en cas d'insuffisances rénale et hépatique.

N.B: Plus la demi-vie est longue plus l'antibiotique est efficace et moins les posologies sont élevées.

L'idéale serait d'utiliser les bétalactamines parce qu'elles coûtent moins chères, mais l'inconvénient réside dans le fait qu'aujourd'hui, nous observons des résistances des bacilles Gram- par production de bétalactamase d'où l'intérêt d'utiliser les Aminosides et les Quinolones, avec cependant des possibilités d'association avec les bétalactamines en cas d'infections sévères.

4.2.2- Thérapeutiques des infections dues aux cocci à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Streptocoques*)

Des souches isolées ont montré une sensibilité vis à vis des antibiotiques suivants:

- Les Céphalosporines de 1^{ère} génération et l'Oxacilline pour *Staphylococcus aureus* et qui possèdent une pharmacocinétique identique à celle des β lactamines citée plus haut;

- Les Glycopeptides (Vancomycine) qui a une demi-vie de 6 à 12 heures par voie intraveineuse et de 6 à 8 heures par voie orale. La diffusion dans les séreuses est intéressante sauf le liquide céphalorachidien.

Il sont contre indiqués dans l'hypersensibilité à la Vancomycine.

Les Macrolides (Erythromycine): l'absorption digestive des macrolides est incomplète, la diffusion est bonne notamment au niveau des voies respiratoires, l'élimination est surtout biliaire. L'élimination urinaire des macrolides est faible (-5% de la dose administrée) d'où leur contre indication dans les infections urinaires.

La demi-vie des macrolides varie entre 16 et 50 heures.

- Les Sulfamides (Cotrimoxazol) qui possèdent une demi-vie de 12 heures. Leur diffusion est bonne dans la plus part des tissus et le liquide extra cellulaire et notamment au niveau pulmonaire et prostatique. Ils sont métabolisés par acétylation, leur élimination est urinaire et biliaire.

Les bêtalactamines, les Macrolides constituent un bon choix dans le traitement des infections à Cocci Gram +.

Cependant, la Vancomycine reste une bonne alternative pour lutter contre les souches multirésistantes, mais son utilisation non contrôlée peut favoriser l'émergence de souches Vancomycine résistantes qui n'existent pas encore à Dakar.

Particulièrement dans les cas des Staphylocoques nous envisageons de donner des bêtalactamines, des macrolides, et des aminosides en association avec la rifampicine et l'acide fusidique.

CONCLUSION

Les infections nosocomiales définies comme des infections contractées à l'hôpital constituent un véritable problème de santé publique.

Leur fréquence et leur gravité font d'elles la principale cause de morbidité et de mortalité en milieu hospitalier.

Leur gravité réside dans le fait qu'elles sont causées par une très grande diversité de bactéries, mais surtout parce qu'elles interviennent sur des terrains déficients et que l'utilisation non rationnelle des antibiotiques conduit à des résistances bactériennes entraînant ainsi une augmentation des risques d'infection et des difficultés thérapeutiques.

La bonne compréhension et la maîtrise de ces infections nosocomiales vue leur impact, nécessite d'une part un bon isolement des germes responsables, d'autre part, une bonne connaissance du comportement des germes vis à vis des antibiotiques.

Notre étude a porté sur les malades et l'environnement de la maternité: femmes hospitalisées, nouveaux-nés de la crèche, atmosphère, mains du personnel et matériel médical.

Le traitement des prélèvements effectués au niveau des différents terrains a révélé une prédominance des bacilles Gram (-) avec surtout *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* chez les malades. Ensuite viennent: les Proteus, les Enterobacter, *Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii*, *Clostridium perfringens*.

Notons qu'au cours de cette période, il y avait une épidémie au niveau de la crèche due à *Klebsiella pneumoniae*, ce qui explique le nombre très important de souches *Klebsiella pneumoniae* isolées chez les bébés.

Au second plan, viennent les Cocci Gram (+), que nous avons retrouvé aussi bien chez les malades que dans l'atmosphère et le manuportage.

Les résultats ont donné pour les Staphylocoques et notamment *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* pour les Streptocoques.

Notre étude a cherché donc à déterminer les causes de ces infections en isolant les bactéries responsables, mais elle a également cherché à établir le profil de sensibilité de ces germes isolés vis à vis des antibiotiques par l'antibiogramme, le E-Test, afin d'établir une antibiothérapie efficace et une chimioprophylaxie adéquate.

* En ce qui concerne l'antibiogramme les résultats obtenus sont les suivants:

- les staphylocoques sont sensibles à l'association Amoxicilline+Acide Clavulanique, la Gentamicine, la Ciprofloxacine, la Rifampicine, la Vancomycine,

l'Erythromycine, et résistants à la Pénicilline (résistance naturelle) et aux Cotrimoxazol.

Ce profil est valable aussi bien chez les souches isolées chez les malades que pour les souches de l'atmosphère et du manuportage.

* La Pénicilline G, l'association Amoxicilline + Acide Clavulanique, la Céfalotine, la Vancomycine, l'Erythromycine sont très actifs sur les Streptocoques, qui cependant résistent à l'Amikacine.

* Les souches de *Klebsiella pneumoniae* se sont révélées sensibles aux Céphalosporines de 2^e génération, à l'Imipénème, également à l'Amikacine et à la Gentamicine.

L'Ampicilline, la Céfalotine, l'association Amoxicilline +Acide Clavulanique ce sont montrées inefficaces sur les souches d'*Escherichia coli*, par contre, les Céphalosporines de 3^e génération, l'Imipénème, l'Aztreonam, les aminosides et les quinolones sont restés actifs sur *Escherichia coli*.

Cette diversité des antibiotiques nous a permis d'établir un schéma thérapeutique en tenant compte: du terrain c'est à dire de l'hôte de la bactérie, de l'antibiotique notamment sa pharmacocinétique, des cas sociaux c'est à dire du coût.

Au vue de nos résultats, des mesures préventives des infections nosocomiales s'avèrent indispensables du fait de la gravité de celles ci.

Il est impératif de mettre en place un comité d'hygiène hospitalier chargé de la formation permanente du personnel en hygiène hospitalière; d'améliorer l'hygiène aussi bien des malades que de l'environnement hospitalier, de respecter un maximum d'asepsie au cours des procédures et gestes iatrogènes; d'établir un règlement pour les visiteurs qui peuvent être source de contamination; d'éviter la prescription hâtive des antibiotiques qui peuvent être une cause de résistance; de mener régulièrement, voir chaque année des études sur l'écologie bactérienne afin de déceler des changements au niveau de la composition de la bactérie, et au niveau de son comportement vis à vis des antibiotiques.

Toutes ces mesures associées à des meilleurs conditions de travail permettront de limiter la survenue des infections nosocomiales et elles doivent faire l'objet de routine.

BIBLIOGRAPHIE**1- ABER R.C.; AND MACKEL D.C.**

Epidemiologic typing of Nosocomial microorganism
In the manuel of microbiology Washington
2^e Ed, 1981, p.118

2- ACAR J.F; BOUANCHAUD D.H; BUU HOI.A

Résistance bactérienne aux antibiotiques
In le MINOR L., VERON M.
Bactériologie médicale
Med.Sc. Flamm, Paris, 1989, 2^e Ed, pp.213-224

3- ANAGONOU SY; ESLAHPAZIRE J.; MAKOUTODE M et al

Sensibilité aux antibiotiques de Bacilles à Gram négatif isolés d'infections urinaires au CHU de Cotonou (BENIN) de Mai à Décembre 1992.
Bull Soc Path Ex 1994; 87: 223-9

4- ANAGONOU SY; ESLAHPAZIRE J.; MAKOUTODE M; JOSSE R.; MASSOUGBADJI A; SADELA BC.

Sensibilité de 534 bacilles à Gram négatif d'infections urinaires en médecine ambulatoire à Cotonou (BENIN).
Med. Mal. Infect., 1995; 25: 766-9

5- ARBEIT R.D.; KARAKAWA WW; VANN W.F AND ROBINS JB

Predominance of two newly described caprular polysaccharide types among, clinical isolates of staphylococcus aureus.
Diag. Microbiol. Infect. Dis, 1984; 2: 85-91

6- BA S.

Phénotypage des souches de Streptocoques sensibles aux Aminosides
Th. Pharm., Dakar, 1995; n°44

7- BERCHE P.; GAILLARD J.L; SIMONET M.

Structure, mode d'action des antibiotiques et mécanismes de la résistance bactérienne.

In Bactériologie Médicale

Med. Sc, Flamm, Paris, 1989: pp.575-592

8- BOYE C.S; DIOP A; KAIRE O.; NDOYE I.; MOREAU JC.; NIANG N.S.; DIADHIOU F.; MBOUP S.

Caractères phénotypiques de différentes souches bactériennes nosocomiales isolées au Service de Gynécologie-Obstétrique du CHU de Dakar.

Bull. Sc, Path, Ex 89, 1996: 245-251

9- BRANGER C.; GOULLET P.

Esterase electrophoretic polymorphism of methicillin sensitive and methicillin resistant strains of Staphylococcus aureus.

Med. Microbiol, 1987:275-281

10- BRANGER C.; GOULLET P.

Correlation between esterase electrophoretic types and capsular polysaccharide types 5 and 8 among methicillin resistant strains of Staphylococcus aureus

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

11- CARBONNELLE B; DENIS F; MARMONIER A; PINON G; VASGUES R.

Serodiagnostics des infections bactériennes

In Bactériologie Médicale, Paris, 1987 pp.309-319

12- CHEUNG A.L; KOOMEY J.M; BUTLEK C.A, PROJAN S.J; FISCHETTI V.A

Regulation of exoprotein expression in Staphylococcus aureus by a locus (Sar) distinct for agar.

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

13- CHABBERT Y.A

sensibilité bactérienne aux antibiotiques

In LEMINOR L; VERON M.; Bactériologie médicale,
2^e Ed, Flam, Med Sc., Paris, 1989: pp.204-212

14- CHRISTOL D; BOUSSOUGANT Y; TREGUER F.

Les germes de l'air, procédés d'étude et de numération. Devenir spontané.
Presse Médicale, 1971; 79: 271-274

15- COSTAS M; COOKSON B.D; TALSANIA H.G; OWEN R.G.

Numerical analysis of electrophoretic protein patterns of methicillin resistant strain of Staphylococcus aureus
J. Clin. Microbiol, 1989; 27: 2574-2581

16- DE LARBRE J.M; GRASNICK C.P; COUMENGES P. et al

Sensibilité aux antibiotiques de Escherichia coli isolé d'hémocultures et d'examen cyto-bactériologique des urines réalisés dans 15 hôpitaux généraux du Sud-Ouest de la France.
Med. Mal. Infect., 1994; 24 special: 535-8

17- DE NOUY D; LEPARGNEAU J.P; AURIOL J.C et al

Evolution des fréquences d'isolement et de la résistance des souches d'Escherichia coli isolées d'infections urinaires en pratique de ville de 1986 à 1993.
Med. Mal; Infect, 1994; 24, Special: 539-42

18- DIA B.

Etude de la résistance des Staphylocoques et des Streptocoques aux antibiotiques.
Th. Pharm., Dakar, 1993; n°67

19- DIALLO O.K

Evaluation des mécanismes de résistance aux b lactamines et aux aminosides de souches de Streptocoques

Th. Pharm, Dakar, 1993; n°60

20- DIENNE J.F

Infections urinaires nosocomiales dans le Service d'Urologie du CHU de l'HALD.

Th. Med, Dakar, 1993; n°11.

21- DIOP A.

Caractères phénotypiques de différentes souches bactériennes nosocomiales isolées au Service de Gynécologie - Obstétrique de l'HALD (Dakar).

Th. Pharm, Dakar, 1994 ; n°82.

22- DUVAL J.

Evolution des des résistances

In LEMENOR L, VERON M, Bactériologie Médicale,

2^e Ed, Flammarion, Paris, 1989: 356-69

23- FRANCIOL I. P

Epidémiologie et contrôle des infections hospitalières.

In REGNIER B, BRUN BUISSON CH, l'infection en réanimation.

Ed. Masson, 1992; 17-34

24- GOERING R.U; WINTERS M.A

Rapid method for epidemiological evaluation of Gram positive Cocci by Field

In version gel electrophoreses

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

25- HALEY RW et al

The Nation Wide Nosocomial Infection rat
Increased recognition of infections diseases in us hospitals
The efficacy of infection surveillance an control programs
Identifiging hig risk surgical patients in Leminor and Flammarrion, Medecine
Science, Paris 1989, pp 107-112.

26- HALEY RW; B COLL

Study on the efficacy of nosocomial infection control (Senil project)
Am. J. Epidem., 1980; 111: 472-485

**27- HEBERT G.A; MORENO C.M.N; CLARK N.C; HILL B.C; JARVIS W.C;
THORNSBERRY C.**

Biotyping coagulase negative Staphylococci.
J. Clin. Microbiol, 1988; 26 (10): 1950-1956

28- HUGUES J.M ; JARVIS W.R

Epidemiology of nosocomial infection.
Manual of Clinical Microbiology
Fourth Ed, Washington, 1985: pp.99-104

29- ISOARD P; FAURE L.P; THEBAULT H.

Infections hospitalières: niveau de cohérence, assurance, qualité
CVC, 1991, vol 67, n°6-7, 19-22

30- JAZY A.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques de souches urinaires
d'Enterobactéries isolées à Niamey (NIGER).
Th. Pharm, Dakar, 1993; n°76

31- KASSE C.

Sensibilité aux antibiotiques des souches de Streptocoques isolés au CHU de Dakar.

Th. Pharm, 1992; n°94

32- KERFSELTDE. T ? MANGAY MAGLACAS. A.

Nosocomial infections. What who is doing ?

Hosp Infect. 1984, 5 suppl A : 7-11.

33- LAURENT A; BERGER J.P

Evolution des espèces bactériennes et de sensibilité aux antibiotiques dans la laboratoire d'un petit hôpital.

Revue Médicale de la Suisse Romande, 1996; 116: 125-30

34- LEMINOR L; VERON M.

Bactériologie médicale

Med. Sc. Flamm 2e Ed, Paris, 89; 99-107

35- LOLOMBANI J.C; SIRAJEDINEK; COLOM H.

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

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

36- LYON D.J; SCHEEL O; FUNG KSC, HENRICHSEN J; CHENG AFIS

Increasing prevalence of multiresistant Streptococcus pneumoniae at Hong Kong teaching hospital (abstract 68 007).

In 7th international congress for infectious diseases, Hong Kong, 1996: 172

37- MAKJ D.G

Control of colonization and transmission of pathogenic bacteria in the hospital
Am. Intern, 1978, 89: 778-780

38- MAISONNET M; VILAIN R.

L'hospitalisme infectieux en chirurgie
Presse Médicale, 1968; n°6: pp.245-246

39- MAURIN M; MUSSO D; CHARREL R. et al

Résistance aux antibiotiques des bactéries hospitalières (bacilles à Gram négatif aérobies): situation de 1992 à Marseille.
Med; Mal. infect, 1995, 25: 508-14

40- MC GOWAW J.E; JR

Role of the microbiological laboratory in prevention and control of nosocomial infections.
In the manual of microbiol, 4th Ed Washington, 1985: 110-122

41- MC GOWAN J.E; ACAR J.F

Infections nosocomiales.
In: reconnaître, comprendre, traiter les infections
Ed Maloine SA, Paris, 1983, pp.731-742
In: les caractères phenotypiques de différentes souches bactériennes nosocomiales isolées au service de Gynécologie-obstétrique du CHU de Dakar
Bull. Soc. Path. Ex 89, 1996: 245-251

42- MOINAR D

Examen cyto bactériologique des urines
In Bactériologie Médicale. Techniques usuelles

Ed SIEMP, Paris, 53-58

43- MOUTON Y; DEBOSCKES Y; THABAUT A; DRUGEON H

Antibiotiques-antibiothérapie

Bristol Myers Squibb infectiologie, 1995.

44- NDIAYE ND.F

Phénotype de résistance et de virulence des différentes souches de Staphylocoques isolées au CHU de Dakar.

Th. Pharm, Dakar, 1993, n°50

45- NDIAYE NF

Ecologie microbienne et facteurs de risque d'infection nosocomiale en milieu chirurgical.

Th. Pharm, Dakar, 1997, n°27

46- NDIAYE R.

Infections nosocomiales à *Klebsiella pneumoniae* au CHU de Fann Dakar.

Th. Pharm, Dakar, 1996, n°63

47- NDIAYE Y.K

Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques et de la résistance par sécrétion de β lactamases à spectre élargi de souches de bacilles Gram négatif isolées au CHU de Dakar.

Th. Pharm, Dakar, 1992, n°25

48- NDOYE I

Evaluation de l'activité bactéricide de différents antibiotiques isolés et en association sur des souches bactériennes isolées au CHU de Dakar.

Th. Pharm, Dakar, 1994, n°84

49- NIANG NS

Les souches bactériennes isolées au laboratoire de bactériologie-virologie de l'HALD en 1987 et 1988.

Bilan et sensibilité aux antibiotiques.

Th. Med, Dakar, 1991, n°35

50- NORIEGA E.R; LEIBOWITZ R.E; RICHMOND A.S; RUBINSTEINE; SCHAFFER S; SIMBERKO FF MS; RAHAL J.J

Nosocomial infections caused by Gentamycin resistant, Streptomycin sensitive Klebsiella.

J. Infect, Dis, 1975, 131, 46-50

51- PARISI J.I

Coagulase négatif, Staphylococci and the epidemiological typing of *S. epidermidis*.

Microbiol. Rev, 1985, 49, 126-139

52- PECHERE J.C

Bases bactériologiques de la thérapeutique antibactérienne In LEMINOR L, VERON M/ Bactériologie médicale,

Flamm, Med. Sc., Paris, 1989, 370-381

53- PHILIPPON A, ARLET G, LAGRANGE PH

Fréquence de résistance et évolution à divers antibiotiques urinaires dont la Fosfomycine en milieu hospitalier (11 816 souches, 1991-1995)

Med. Mal. Infect, 1996, 26: 539-541

54- PINCHON TM; EMERIQUE P; DEMANGE C.

Consommation d'antibiotiques et profils de sensibilité de quelques microorganismes dans un centre hospitalier général.

Med. Mal. Infect, 1993; 23: 360-6

55- PREVOST G.; JARELHAC B.; PIEMONT Y.

DNA finger printing by pulsed. Field gel electrophoresis more effective than ribotyping in distinguishing among methicillin resistant Staphylococcus aureus isolates
J. Clin. Microbiol, 1992, 30 (4): 967-973

56- SADOVOSKI L. PETER, BRYAN C. PETERSON; DALE N. GERDING; PAUL P. CLEARY

Physical characterization of Ten R plasmid obtained from an out break of nosocomial *Klebsiella pneumoniae* infections
Anti Microbiol Agent and Chemotherapy, 1979, 616-624

57- SAFRAN E.; PITTET D.; BORST F.; THURLER G; SCHULTHEN P.; REBOUILLAT L; et Coll.

A informatiques et qualité des soins: application 7 à la surveillance des infections hospitalières.
Revue Médicale de la Suisse Romande, 114, 1994, 1035-1043

58- SMITH P.B

Biotyping its value as an epidemiologic tool
Clin. Microbiol. Newsly, 1983, 5: 165-166

59- SMITH P.B.

Bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*
In J.O. Cohen Ed the *Staphylococci*. Wiley Interscience, New York, pp.431-441

60- SOUMARE Y.R

Profil antibiotique des bactéries isolées au laboratoire de Bactériologie du CHU de Fann (Etude sur deux ans: 1987-1988)

Th. Pharm, Dakar, 1989, n°74

61- SY K.R

Souches bactériennes et résistance aux antibiotiques données actuelles au CHU de l'HALD de Dakar

Th. Pharm, Dakar, 1996, n°55

62- THABAUT A.; PHILIPPON A.; MEYRAN M.

Activité comparée des β lactamines actives sur *Pseudomonas aeruginosa* en fonction des phénotypes de résistance.

Presse Médicale, 1984, 13: 768-771

64- TOURE A.

Etude prospective des souches de Staphylocoques à coagulases négatives isolées au CHU de Dakar:

- sensibilité aux antibiotiques

- phénotype de résistance aux β lactamines

Th. Pharm, Dakar, 1992, n°93

65- TOURE NC

Etude des marqueurs épidémiologiques des souches de *Klebsiella* à l'origine des septicémies et méningites dans deux services de néonatalogie du CHU de Dakar

Th. Pharm, Dakar, 1989, n°16

66- TRAORE H.

Serogroupage et étude de la sensibilité aux antibiotiques des Streptocoques hémolytiques isolés au centre hospitalo-universitaire de Dakar (Etude portant sur 117 souches).

Th. Pharm, Dakar, 1983, n°47

67- WEBER PH; SCOTTO M; PLAISANCE J.J et al

Activités in vitro de l'Amoxicilline et de l'association Amoxicilline-Acide

Clavunaliq vis à vis d'Escherichia coli en médecine de ville
Med. Mal. Infect, 1995, 25: 593-8

