



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de fin d'étude

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**Intérêt de l'antibiogramme en
bactériologie**

Présenté par : MAHMOUDY Nouhayla

Encadré par : Pr BEKHTI Khadija....FST FES

: Pr SBITI Mohammed...Hôpital Militaire Moulay Ismail Meknès

Soutenu le : 12-06-2019

Devant le jury composé de :

Pr BEKHTI Khadija

Pr SBITI Mohammed

Pr EI FARICHA Omar

Stage effectué à : Laboratoire d'analyses médicales de l'Hôpital Militaire
Moulay Ismail Meknès

Année universitaire 2018/2019

Dédicace

Je dédie humblement ce manuscrit

A Allah

Tout puissant Qui m'a inspiré Qui m'a guidé dans le bon chemin

A ma très chère mère

Ce travail est le fruit de tes efforts, de ton amour, de tes prières et de tes encouragements. Tu as consacré le meilleur de toi même à notre éducation et à notre réussite

A mon très cher Père

Ton souci majeur est et demeure le bonheur et la réussite de tes enfants. Tous les sacrifices consentis pour notre éducation m'ont guidé chaque jour de ma vie

A mes frères, À mes chers amis et enseignants

A tous ce qui ont collaborés de près ou de loin à l'élaboration de ce travail



SOMMAIRE

Avant-propos

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures et tableaux

Introduction.....1

Objectifs.....1

Revue bibliographique

I. Antibiotiques, base des traitements des infections microbiennes..... 2

1. Définition..... 2

2. Classification et mode d'action des antibiotiques 2

- Action sur la paroi bactérienne 2
- Action sur la membrane cytoplasmique..... 3
- Action au niveau du ribosome..... 4
- Action au niveau du noyau 4

II. Résistance microbiennes aux antibiotiques..... 4

1. Définition..... 4

2. Types de résistance 5

3. Mécanisme de résistance 5

- Résistance enzymatique 5
- Résistance par imperméabilité..... 6
- Résistance par efflux..... 6
- Résistance par modification de la cible 6
- Résistance par biofilm 7

III. Antibiogramme ou profil de résistance et de sensibilité d'une souche bactérienne 8

1. Définition d'un antibiogramme 8

2. principe..... 8

3. milieux de cultures 10

4. Définition de la CMI / CMB..... 11

5-Détermination de la CMI..... 11

6-interprétation des antibiogrammes..... 13

Matériel et méthodes

1-type d'étude.....	16
2. Matériel.....	16
3-Méthodes.....	16
3-1 Milieux de cultures.....	16
3-2 Ensemencement.....	16
3-3 Choix et dépôt des disques ATB.....	16
3-4 Incubation.....	17
3-5 Lecture et interprétation.....	17

Résultats et discussion

1-Population étudié.....	20
2-pourcentage de culture positives.....	20
3-Repartition des antibiogrammes selon les données des patients.....	21
4-Repartition des antibiogrammes selon les services.....	22
5-Repartition des antibiogrammes selon la nature du prélèvement.....	23
6-Répartition es antibiogrammes selon la souche bactérienne.....	24
7-Répartition des antibiogrammes selon l'affinité tinctoriale.....	24
8-Profil de résistance pour chaque famille d'antibiotiques.....	25
9- profil de résistance des principaux germes isolés aux antibiotiques testés.....	26
9-1 <i>E coli</i>	26
9-2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
9-3 <i>Staphylococcus aureus</i>	27
9-4 <i>Acinetobacter baumannii</i>	28
10-Répartition selon les BMR.....	29
11-Avantages /inconvénient de la méthode utilisée.....	30
Conclusion.....	31
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	32
Annexes.....	35

Avant-Propos

Ce projet de fin d'études est réalisé dans le cadre de l'obtention de la Licence Sciences Biologiques Appliquées et Santé (SBAS) de la FST FES. Le stage s'est déroulé du 01 avril 2019 au 20 mai 2019 au sein du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Militaire Moulay Ismail (HMMI), sous la direction du Dr SBITI MOHAMMED responsable du service bactériologique et sous l'encadrement du Pr. BEKHTI KHADIJA enseignante à la faculté des sciences et techniques Fès-Sais.

Le sujet porte sur : « Intérêt de l'antibiogramme en bactériologie ». Cette étude se veut être une contribution qui va permettre de révéler le profil épidémiologique et de résistance des souches bactériennes isolées au sein du laboratoire de *l'HMMI*

Remerciements

Je souhaitais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce projet ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Je tiens à remercier dans un premier temps mon encadrant externe **Mr SBITI Mohammed** chef de service bactériologie, virologie au laboratoire de l'Hôpital Militaire Moulay Ismail pour avoir m'accepté comme stagiaire tout d'abord, ainsi pour ces conseils, sa disponibilité, son encouragement, il m'a beaucoup appris et à partager ses connaissances dans le domaine de microbiologie.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à mon encadrant interne, **Mme BEKHTI Khadija** professeur de microbiologie à la FST Fès, Je la remercie de m'avoir encadré, pour l'aide et les conseils concernant les missions évoquées dans ce rapport, qu'elle m'a apporté lors des différents suivis.

Je remercie infiniment **Mr El FARICHA Omar** pour avoir accepté de juger mon travail.

Je voudrais également remercier tout le personnel du laboratoire surtout, pour leur collaboration et pour les bonnes conditions d'accueil dont j'ai pu bénéficier.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches.

Finalement merci à tous mes amis et collègues qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

Liste des abréviations

ABRI	Acinetobacter baumannii résistant à l'imipénème
AMC	Amoxicilline + acide clavulanique
AML	Amoxicilline
BCP	Pourpre de bromocrésol
BGN	Bacille Gram négatif
BMR	Bactérie multi-résistante
C1G	Céphalosporines de première génération
CASFM	Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CL	Colistine
ECBC	Examen cytbactériologique des crachats
ECBU	Examen cytbactériologique des urines
EBLSE	Entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu
FA	Acide fusidique
FOS	Fosfomycine
HMMI	Hôpital Militaire Moulay Ismail
LCR	Liquide céphalorachidien
LZD	Linézolide
MH	Mueller-Hinton
PDP	Prélèvement distal protégé
Pen G	Pénicilline G
PLP	Protéines liant les pénicillines
PV	Prélèvement vaginal
SARM	Staphylococcus résistant à la méticiline
SXT	Triméthoprim/sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)
TCC	Ticarcilline + acide clavulanique
TIC	Ticarcilline
TZP	Pipéracilline + tazobactam

Liste des figures

Figure 1 : Organisation du laboratoire HMMI	
Figure 2 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	07
Figure 3 : L'antibiogramme par diffusion en milieu solide.....	09
Figure 4 : Concentrations critiques inférieures et supérieures	11
Figure 5 : Mesure de la cmi par des dilutions	12
Figure 6 : Mesure de CMI par la méthode d'E test	13
Figure 7 : Exemple de listes des antibiotiques testés pour staphylococcus.....	17
Figure 8 : Milieu chromogène.....	18
Figure 9 : Agglutination du latex.....	18
Figure 10 : Exemple de Galerie Api 20 ^e : Enterobacter cloacae	19
Figure 11 : pourcentage de culture positives	20
Figure 12 : Répartition des antibiogrammes selon la catégorie des patients	22
Figure 13 : Répartition des antibiogrammes selon les services.....	23
Figure 14 : Profil de résistance de chaque famille d'antibiotique.....	26
Figure 15 : Profil de résistance chez <i>E coli</i>	26
Figure 16 : Profil de résistance chez <i>P.auroginosa</i>	27
Figure 17 : Profil de résistance chez <i>S.aureus</i>	28
Figure 18: Profil de résistance chez <i>A.baumannii</i>	28

Liste des tableaux

Tableau 1 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur la paroi.....	02
Tableau 2 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur la membrane.....	03
Tableau 3 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur les ribosomes.....	04
Tableau 4 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur le noyau.....	04
Tableau 5 : Les catégories RIS et leurs significations.....	10
Tableau 6 : Résistance naturelle chez les entérobactéries.....	14
Tableau 7 : Résistance naturelle des entérobactéries aux bêta-lactamines.....	14
Tableau 8 : Résistance enzymatique par production de bêta-lactamases.....	15
Tableau 9 : Répartition des antibiogrammes selon le sexe.....	21
Tableau 10 : Répartition des antibiogrammes selon la catégorie des patients	21
Tableau 11 : Répartition des antibiogrammes selon les services.....	23
Tableau 12 : Répartition des antibiogrammes selon les prélèvements.....	24
Tableau 13 : Répartition des antibiogrammes selon la souche bactérienne.....	24
Tableau 14 : Répartition des antibiogrammes selon l'affinité tinctoriale.....	25
Tableau 15 : Répartition des antibiogrammes selon les BMR.....	29
Tableau 16: avantages et inconvénients +causes d'erreurs de l'antibiogramme en milieu gélosé.....	30

Résumé

L'antibiorésistance est une préoccupation majeure en médecine, sa mise en évidence se fait par l'antibiogramme. Cette étude prospective d'un mois (Avril 2019) a concerné 154 antibiogrammes soit 16% des cultures bactériologiques positives effectuées par le laboratoire d'analyse médicale de l'hôpital militaire de Meknès. Le profil épidémiologique de ces antibiogrammes a montré que la majorité des prélèvements positifs appartiennent à des patients militaires (92%), que l'ECBU est l'examen le plus fréquent (69%) et que *E coli* est la bactérie dominante (40%). Le profil de résistance selon les familles d'antibiotiques a montré la dominance de résistance des isolats aux pénicillines (65%) aux lincosamides et macrolides (56%). *Ecoli* est résistante à 70% aux pénicillines et 46.15% des souches multirésistantes sont des bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE), *Staphylococcus aureus* est résistante à 90% à la pénicilline G et 30.8 % sont des *Staph-meticilline resistant* (SARM :résistant à la méticilline), *Acinetobacter baumannii* est résistante à la plupart des antibiotiques dont 23.6% des BMR sont des bactéries résistante à l'imipénème(ABRI) et *Pseudomonas aeruginosa* présente une résistance naturelle aux tigécyclines et SXT.

Mots clés : antibiogramme, profile épidémiologique, profile de résistance.

Description de l'Hôpital militaire Moulay Ismail Mekhès

Mon stage a été effectué au sein du service de bactériologie de l'Hôpital Militaire Moulay Ismail (HMMI), cet hôpital polyvalent qui été créé pendant l'année 1995 a une capacité de 294 lit, en plus des services suivant :

- **Service de Chirurgie** : Stomatologie, Chirurgie Viscérale, Traumatologie, Urologie, Gynécologie, Ophtalmologie, ORL, Neurochirurgie, chirurgie plastique.
- **Service de Médecine** : Pneumonie, Dermatologie, médecine interne, Neurologie , Oncologie , Gastro-entérologie..
- **Service de Réanimation**
- **Service des Urgences**
- **Service de Radiologie** : radiologie standard, échographie, scanner, IRM (Imagerie par résonance magnétique):
- **Laboratoire d'analyses médicales** :il comprend une salle d'accueil des patients et quatre salles de prélèvements et plusieurs services dont l'organigramme est le suivant :

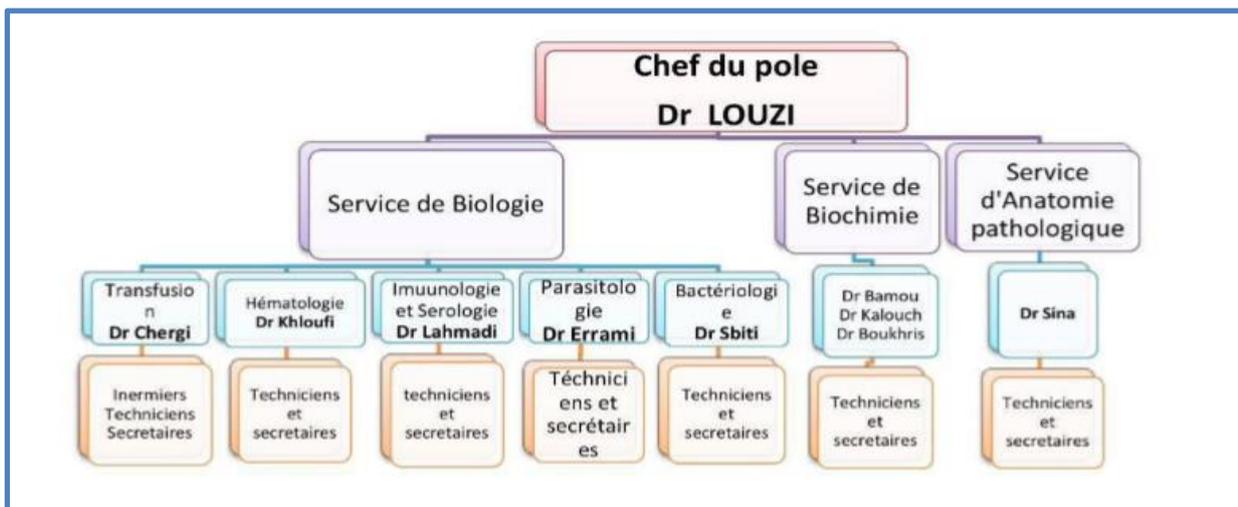


Figure 1 : Organisation du laboratoire HMMI

Description du service de bactériologie

Le service comprend quatre salles :

- Une salle pour les examens bactériologiques de routine : ECBU , ECBC , PDP , LCR Hémoculture , PUS , PV , ...
- Une salle pour recherche et culture des Mycobacterium tuberculosis
- Une salle pour la validation et Edition des résultats
- Une salle de préparation des milieux de culture : BCP, MH ,Chapman ...

Le personnel du service : deux biologistes, six techniciens et deux secrétaires.

INTRODUCTION

L'antibiogramme est un test bactériologique qui consiste à déterminer la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques. C'est une technique qui donnera des indications sur l'efficacité *in vitro* des antibiotiques à appliquer lors d'une infection bactérienne.

L'impact médical de la réalisation d'un antibiogramme est de plusieurs ordres : immédiat (traitement de la maladie concernée et alerte à la résistance), différé (traitements empiriques), collectif (surveillance de la résistance).

En effet l'antibiogramme est considéré parmi les tests les plus importants en bactériologie clinique car non seulement il est d'une grande aide quant au choix du traitement à appliquer lors d'une infection bactérienne mais aussi c'est un outil d'aide aux études épidémiologiques permettant de suivre l'évolution des résistances bactériennes et de faire évoluer les recommandations en antibiothérapie probabiliste.

La réalisation d'un antibiogramme engage la responsabilité du biologiste car elle peut inciter le clinicien à un traitement inutile, voire dangereux pour le patient d'où sa confection et son interprétation selon des recommandations et des normes fixées par des Comités de l'Antibiogramme. Ces experts comme l'EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST) sont chargés de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques et de proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

L'objectif de ce travail est de décrire le profil épidémiologique et de résistance bactérienne des souches isolées au sein du laboratoire de bactériologie de *l'Hôpital militaire Moulay Ismail Meknès*. Pour ce faire nous nous sommes basés sur les résultats de l'étude prospective réalisée durant le mois d'avril 2019, période de notre stage au sein de ce laboratoire.

I. Antibiotiques, base des traitements des infections microbiennes

1. Définition

En 1941, Waksman, découvreur de la streptomycine, a proposé le mot antibiotique pour désigner toute substance produite par un micro-organisme et qui a le pouvoir d'inhiber la croissance d'autres micro-organismes et même de les détruire [3]. Aujourd'hui, cette notion s'étend aux substances chimiques, élaborées par des micro-organismes ou par synthèse chimique, capables d'inhiber la multiplication (bactériostatique) ou de détruire (bactéricide) des bactéries. Les antibiotiques ont pour but de diminuer ou de stabiliser la quantité de bactéries présentes au niveau du site infectieux et d'aider les cellules du système immunitaire à entamer le processus de guérison.

La particularité de cette classe thérapeutique réside dans le fait que sa cible pharmacologique est localisée, non pas dans un tissu particulier de l'organisme humain, mais dans une bactérie hébergée accidentellement ou en permanence par cet organisme. La molécule antibiotique devra donc satisfaire à la double exigence d'être la plus toxique possible pour la bactérie visée et la moins toxique possible pour l'organisme hébergeant cette bactérie [4] [5].

2. Classification et mode d'action des antibiotiques

L'usage vraisemblablement en raison de l'intérêt bactériologique qui en découle, a consacré une classification des antibiotiques basé sur le site d'action dans la bactérie ou sur le processus physiologique visé. Ainsi on distingue :

- **Action sur la paroi bactérienne**

Tableau 1 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur la paroi

Antibiotiques	Mode d'action
β-lactamines (1-Pénicillines [pénicilline M – Pénicilline A-Carboxypénicillines Uréidopénicilline - Aminopénicillines] , 2- Céphalosporines [1ères, 2èmes et 3èmes générations..] , 3- Carbapénèmes .	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane constituant de la paroi des bactéries, par fixation élective sur les cibles- enzymatiques de la Membrane cytoplasmique, appelées << PLP >> (protéines de liaison aux pénicillines [6] [7].

Les Glycopeptides : la vancomycine et la teicoplanine (usage hospitalier , injectable) [6]	Inhibiteurs de la polymérisation du Peptidoglycane.
Les Phosphonopectides : fosfomycine	Il inhibe la synthèse de la paroi cellulaire en bloquant l'étape cytoplasmique de la synthèse du peptidoglycane. Elle agit par inhibition de l'enzyme MurA [8].

- **Action sur la membrane cytoplasmique**

Tableau 2 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur la membrane

Antibiotiques	Mode d'action
Les Gramicidines	L'augmentation de la perméabilité cationique de la membrane plasmique de la bactérie cible
les Polymyxines (colistine ,polymyxine B	Elle interagissent avec les phospholipides de la membrane cytoplasmique à la façon d'un détergent, solubilisant ainsi la membrane, en provoquant une fuite cellulaire.
Les Daptomycines	En présence de calcium, il s'insère dans la membrane cytoplasmique des bactéries a Gram + ,provoquant une dépolarisation membranaire, responsable d'une fuite de potassium. Il s'en suit un arrêt de la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines [9].

- **Action au niveau du ribosome**

Tableau 3 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur les ribosomes

Antibiotiques	Mode d'action
aminosides, cyclines ,	Ils agissent en inhibant la synthèse protéique des bactéries par fixation sur le ribosome 30 S Ce sont des antibiotiques bactéricides et concentration dépendant [10].
Macrolides-Lincosamides Synergistines	Inhibition de l'élongation par le site P.
Phénicolés	Inhibition de l'activité de la peptidyl transférase.

- **Action au niveau du noyau**

Tableau 4 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur le noyau

Antibiotiques	Mode d'action
Quinolones	Leur cible intracytoplasmiques sont de enzymes impliquées dans la régulation du surenroulement de l'hélice d'ADN sur elle-même (Topo isomérase) .
Rifampicines	Il inhibe l'ARN polymérase bactérienne ,enzyme responsable de la transcription .La rifampicine est utilisée principalement dans le traitement des infections à mycobactéries, en particulier la tuberculose [6] .
Sulfamide-triméthoprim	Ils agissent comme inhibiteurs des acides nucléiques (bases puriques et pyrimidique) en bloquant l'utilisation des folates exogènes par inhibition des dihydrofolate synthétase et réductase [9].

II. Résistance microbiennes aux antibiotiques

1. Définition

Selon le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie 2019 :

- **Définition thérapeutique** : Une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable in vivo.

- **Définition épidémiologique** : Une souche est dite « résistante » lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce [11].

- **Définition génétique** : Une bactérie est dite « résistante » quand elle héberge des nouveaux gènes codant pour cette résistance, ce qui se traduit par un changement ou acquisition d'une protéine [11,12].

- **Définition clinique** : Une bactérie est dite « résistante » quand elle échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade, c'est ce qui se manifeste par un échec thérapeutique. Dans la majorité des infections, une résistance clinique vraie se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, CRP [protéine C réactive], Polynucléaires, élevés) après environ 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique [11,12].

2. Types de résistance

La résistance des bactéries aux antibiotiques est soit naturelle, soit acquise.

- **La résistance naturelle** d'une espèce ou d'un genre est une caractéristique propre, appartenant à l'ensemble des souches de cette espèce ou de ce genre. Elle est toujours transmissible à la descendance (transmission verticale), car portée par le chromosome. La résistance naturelle détermine les phénotypes (sauvage) des espèces bactériennes vis-à-vis des antibiotiques.
- **La résistance acquise** à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une résistance à la molécule. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés (plasmide, transposons, intégrons) d'un autre micro-organisme par conjugaison, transduction ou conversion [13].

3. Mécanisme de résistance

- **Résistance enzymatique**

C'est le mécanisme le plus fréquent observé en bactériologie humaine, il peut agir par exemple d'une destruction de l'antibiotique, telle l'hydrolyse des β -lactamines par les β -lactamases. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un

groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité [9].

- **Résistance par imperméabilité**

Se fait par une mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie, en le rendant imperméable, il concerne surtout les bactéries à Gram -.

- **Résistance par efflux**

Le système d'efflux actif comprend toujours une protéine située au niveau de la membrane cytoplasmique qui joue le rôle de pompe à extrusion. Elle utilise comme source d'énergie le plus souvent la force proton motrice et expulse l'antibiotique dès qu'il apparait dans la cellule bactérienne. La résistance par efflux a été décrite chez de très nombreuses espèces, *E coli* et *P.aeruginosa* entre autres. Elle concerne des antibiotiques très variés telles les fluoroquinolones, le chloramphénicol, les tétracyclines, les bêtalactamines, les aminosides. L'efflux est donc souvent responsable d'une multirésistance aux antibiotiques, principalement de bas niveau [9].

- **Résistance par modification de la cible**

Des bactéries peuvent produire des protéines structurales se substituant aux protéines qui sont les cibles normales des antibiotiques. Citons comme exemple l'altération de la PLP (protéine liant la pénicilline) produite par des staphylocoques résistants à la méticilline. Ces protéines PLP mutées permettent aux bactéries de synthétiser normalement leurs parois cellulaires, même en présence d'antibiotiques de la classe des β -lactamines [14]. On peut observer une modification partielle de la nature de la cible, une modification du nombre, un changement total [nouvelle cible], parfois une association de plusieurs de ces mécanismes, ces modifications se font soit par :

- ✓ mutation :

- Résistance acquise aux fluoroquinolones par modification de l'ADN gyrase ou de l'ADN topoisomérase IV.
- Résistance des mycobactéries à la streptomycine, à la rifampicine, aux macrolides par modification du ribosome ou de la sous unité beta de l'ARN polymérase.

- ✓ acquisition de gènes ou de fragments de gènes exogènes :

- Résistance acquise de *S.aureus* à la méticilline (PLPa , gène mecA).
- Résistance acquise du pneumocoque aux beta lactamines (PLP₅).
- **Résistance par biofilm**

Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface. Les bactéries du biofilm peuvent résister à la réponse immunitaire de l'hôte et sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques et aux désinfectants que les cellules bactériennes planctoniques. Plusieurs facteurs peuvent expliquer la plus grande résistance, Un de ces facteurs est la matrice polymérique qui agit comme barrière réduisant ou empêchant la diffusion des agents antimicrobiens. Les charges électrostatiques à la surface de la matrice polymérique peuvent aussi lier certains agents antimicrobiens. Ainsi certaines cellules du biofilm seront peu actives métaboliquement et pourront même être sous forme dormante ; ce sont d'ailleurs probablement responsables d'une grande partie de la tolérance associée aux biofilms On retrouve ce polymère chez plusieurs espèces bactériennes, dont *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *St epidermidis* [15].

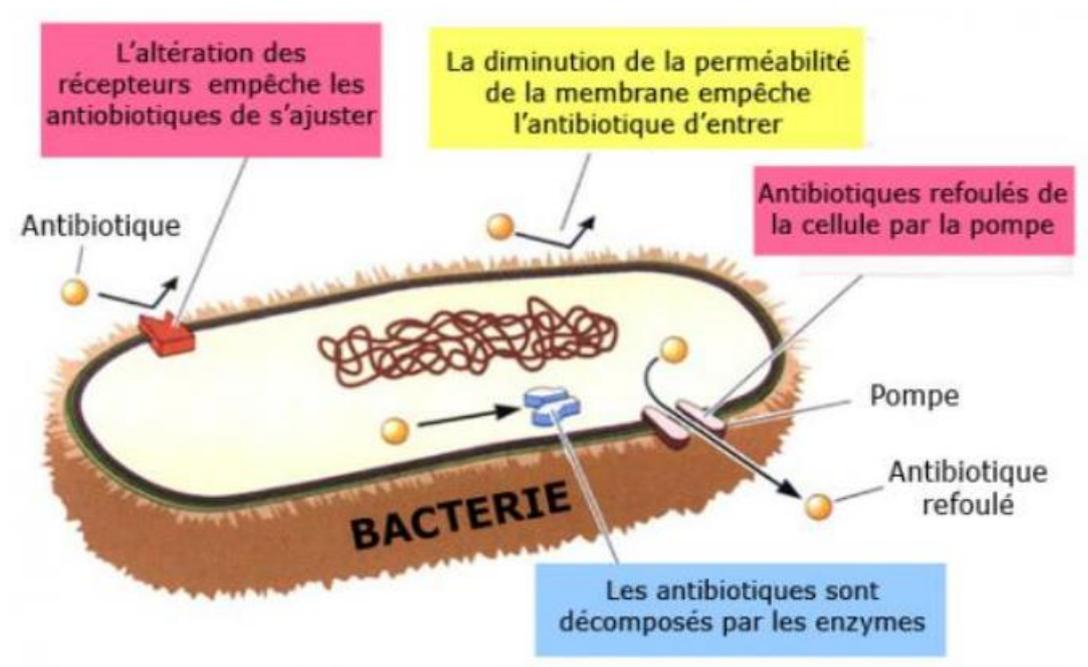


Figure 2 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques

III. Antibiogramme ou profil de résistance et de sensibilité d'une souche bactérienne

1. Définition d'un antibiogramme

L'antibiogramme est un test particulier dans la bactériologie qui sert à déterminer la résistance des bactéries aux antibiotiques *in vitro*.

Le but essentiel de l'antibiogramme est l'aide à la décision thérapeutique. Il sert également à la :

- Surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne qui orientera ultérieurement l'antibiothérapie probabiliste.
- Comparaison des phénotypes de résistance de souches présumées responsables d'infection nosocomiale.
- Identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles. [9]

2. principe

L'antibiogramme par diffusion en milieu solide gélosé

Une pastille de papier buvard contenant une certaine quantité d'antibiotique sous forme de disc est déposée à la surface d'une gélose. L'antibiotique diffuse vers la gélose selon deux directions, l'une verticale (vers le fond de la gélose), l'autre horizontale, de façon supposée homogène autour du disque. Cette double diffusion crée ainsi un gradient de concentration homogène décroissant du bord de la pastille vers l'extérieure, Après ensemencement de la gélose par la bactérie à tester, la croissance de celle-ci se fait tout autour du disque, en s'arrêtant pour former un halo d'inhibition de la croissance à l'endroit où la concentration du gradient dans la gélose est égal à la concentration minimale inhibitrice. Il en résulte que le seul paramètre tangible mesurable est le diamètre de ce halo d'inhibition. Il convient donc de transformer ce diamètre en « S », « I » ou « R » pour donner au clinicien une information utile au choix de l'antibiothérapie Cette « interprétation » du diamètre passe par l'intermédiaire de la droite de concordance spécifique de l'antibiotique [2] .

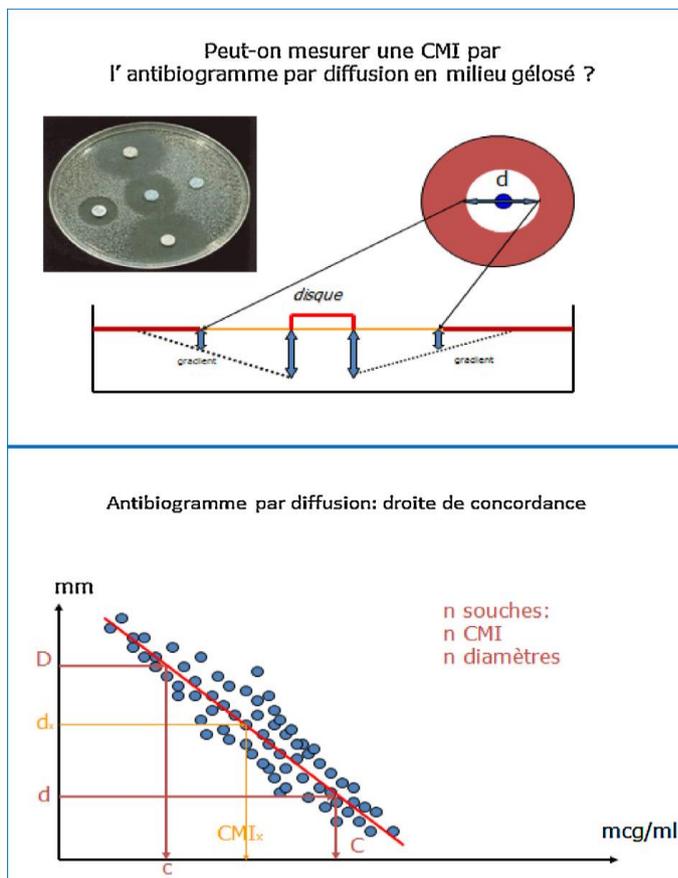


Figure 3 : antibiogramme par diffusion en milieu solide

La droite de concordance d'un antibiotique est réalisée grâce à la mesure de la CMI de cet antibiotique sur un grand nombre de souches ($n =$ plusieurs centaines) représentatives de bactéries rencontrées en pathologie infectieuse humaine. Parallèlement, sur ces souches, on réalise la mesure de l'halo d'inhibition obtenue par diffusion à partir d'un disque contenant la quantité d'antibiotique. Ainsi, pour chaque souche, on dispose d'une paire de valeurs (CMI/diamètre) et l'ensemble des paires ainsi formées va permettre d'élaborer une droite de corrélation diamètre versus CMI (Fig. 3). C'est la droite de concordance. Il suffit par la suite de mesurer un diamètre lors de la réalisation d'un antibiogramme par diffusion et de se référer à la droite de concordance pour obtenir la CMI. Il existe une droite concordance pour chaque antibiotique utilisé [2].

DEFINITION DES CATEGORIES CLINIQUES

Selon le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie 2019 :

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I).

Tableau 5 : les catégories RIS et leurs significations

Catégorie	CMI	Signification thérapeutique
Sensible	$CMI \leq c$ (concentration critique basse)	Les souches catégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie générale ou orale.
Résistante	$CMI > C$ (concentration critique haute)	Les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quelque soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée
Intermédiaires	$c < CMI \leq C$	La probabilité de succès thérapeutique est forte uniquement dans le cas d'un traitement par voie systémique avec une posologie forte, ou lorsque l'antibiotique se concentre au site de l'infection .Pour une information complète des prescripteurs, cette catégorie intermédiaire va devenir « sensible à forte posologie »

L'antibiogramme en milieu liquide

Il existe une galerie antibiogramme. Chaque antibiotique est testé à deux concentrations différentes (délimitant les zones « sensible » et « résistant ») en milieu liquide, on parle de macrométhode lorsqu'on utilise des tubes contenant l'antibiotiques en bouillon MH, ou microméthode lorsqu'on utilise des cupules.

3. milieux de cultures

En règle générale, pour la méthode de diffusion en gélose on utilise la gélose de Mueller-Hinton (MH) qui peut être préparé localement à partir d'une poudre déshydraté ou être acheté prêt à l'emploi, l'étude des bactéries a croissance lente et exigeantes (*streptococcus spp dont pneumocoque, Haemophilus spp , Moraxella...*) nécessite un gélose MH au sang de cheval défibriné à 5% ,. Conservation des boîtes au laboratoire : 8-10°C. Au-delà de 7jours : 4-8°C en sachet scellé. [17]

Le bouillon MH ajusté en cation divalents est employé lors des méthodes de dilution en milieu liquide.

4. Définition de la CMI / CMB

Les interactions bactérie/antibiotique dans le temps, en présence de concentrations croissantes d'antibiotique, peuvent se traduire soit par un ralentissement de la croissance bactérienne (bactériostase), soit par un effet léthal de l'antibiotique (bactéricidie). La bactériostase est quantifiée par la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la bactéricidie par la concentration minimale bactéricide (CMB), les deux concentrations étant exprimées en mg/l. La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu, après 16 à 24 heures d'incubation, de la souche bactérienne étudiée. La CMB est la plus faible concentration d'antibiotique laissant après 16 à 24 heures d'incubation un pourcentage de survivants $\leq 0,01\%$ (soit -4 Log_{10}) de l'inoculum de départ [18].

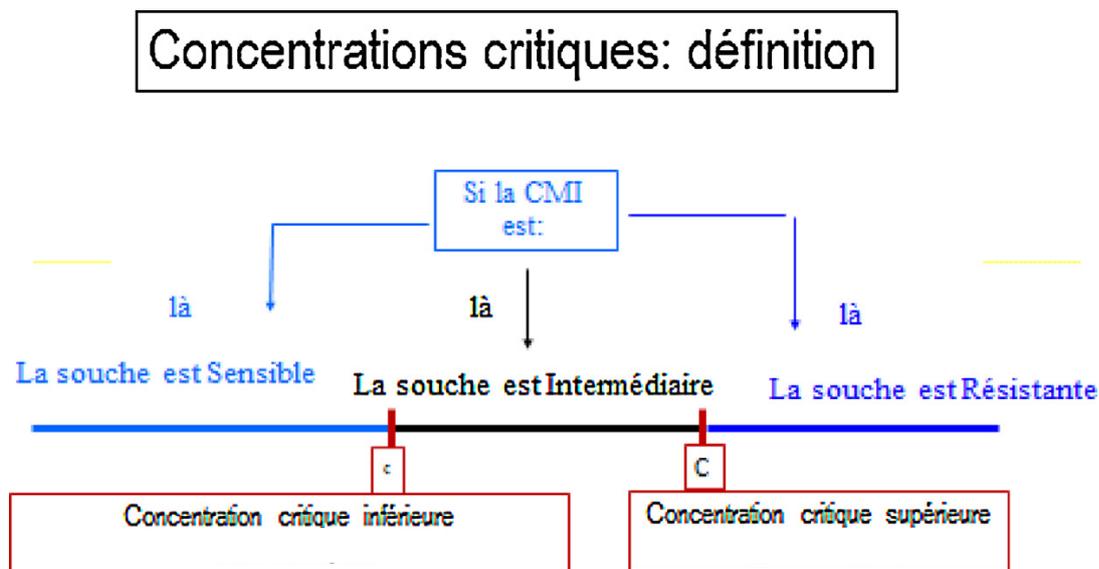


Figure 4: Concentrations critiques inférieures et supérieures

Les concentrations critiques sont des CMI seuils, des bornes, qui permettent de statuer sur la sensibilité ou la résistance d'une bactérie donnée à un antibiotique par comparaison à ces seuils de la CMI prise par cet antibiotique vis-à-vis de cette bactérie (figure 4). Les concentrations critiques sont spécifiques pour chaque antibiotique. Pour un antibiotique donné, elles peuvent être également spécifiques d'un genre bactérien, voire d'une espèce bactérienne. [19]

5-Détermination de la CMI

La catégorisation clinique d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un antibiotique (sensible, intermédiaire, résistante) repose sur la détermination in vitro de sa concentration minimale inhibitrice confrontée aux concentrations critiques [20]

Méthodes directes (de référence)

Détermination de la concentration minimale inhibitrice. Soit par macrodilution en milieu liquide. La CMI correspond à la concentration de l'antibiotique contenue dans le premier tube resté limpide après 24 h d'incubation avec la bactérie. Cette méthode, de référence, ne permet de tester qu'un antibiotique par gamme. Soit par microdilution en plaque. Chaque ligne de la plaque correspond à un antibiotique. La CMI est donnée par la première cupule (rouge) dans laquelle la croissance de la bactérie a été inhibée (figure 5) [21].

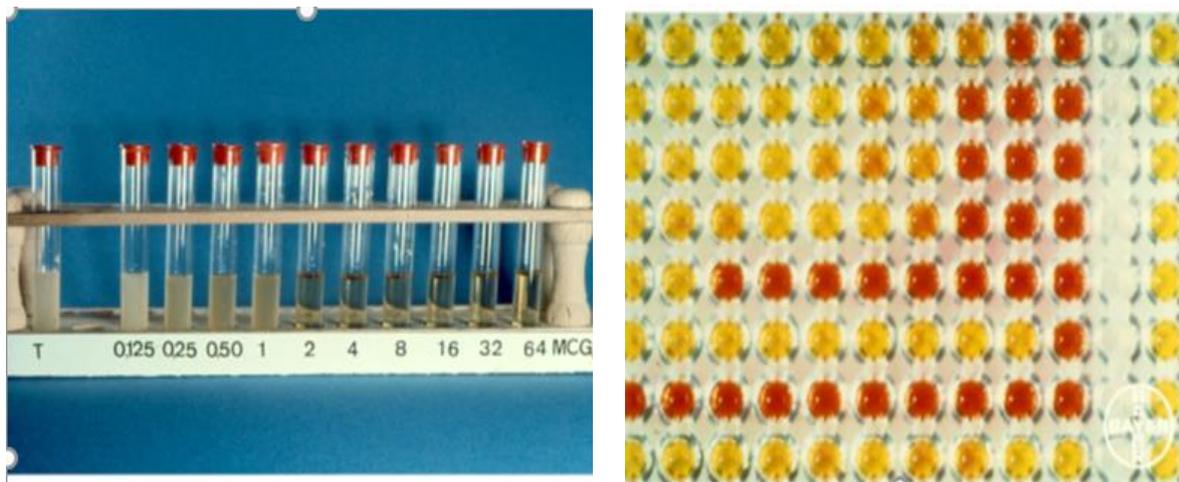


Figure 5 : mesure de la cmi par macrodilution et microdilution

Méthodes indirectes

Méthode de disques : par mesure d l'halo inhibition sur l'antibiogramme à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle

Méthode d'E-test ou Epsilométre : Il s'agit d'une technique de diffusion en milieu gélosé permettant de donner une mesure précise de la concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique, on utilise de bandelettes de plastique inertes et non poreuses constitué de deux cotés :Un côté présente une échelle de lecture de CMI en $\mu\text{g/ml}$, Un gradient exponentiel prédéfini d'antibiotique séché et stabilisé est immobilisé sur l'autre face.. Lorsque celle-ci est déposée sur une gélose Müller-Hinton préalablementensemencée à l'aide d'un inoculum bactérien contenant 10^6 UFC/ml, l'antibiotique se répartit selon un gradient de concentration croissant. La lecture est réalisée après 24 ou 48 heures d'étuve à 37°C . Une ellipse d'inhibition de culture se dessine autour de la bandelette et la CMI correspond à la valeur lue à l'intersection de la culture bactérienne et de la bandelette (Fig. 6).

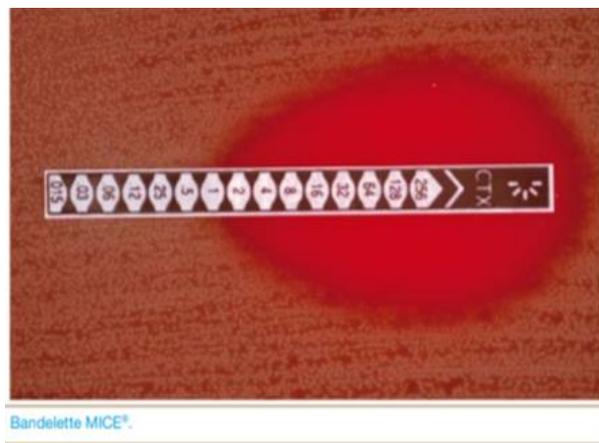


Figure 6 : mesure de CMI par la méthode d' E test [17]

6-interprétation des antibiogrammes

Pour interpréter un antibiogramme, il faut baser sur des recommandations pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques, les résistances naturelles et acquises des bactéries, les concentrations critiques pour l'interprétation des CMI et des diamètres critiques des zones d'inhibition

Les phénotypes de la résistance bactérienne

La lecture de l'antibiogramme permet d'obtenir l'expression phénotypique, c'est-à-dire de déterminer la sensibilité de la souche vis-à-vis d'un nombre déterminé d'antibiotique. Si la souche n'exprime que des résistances naturelles, on dit qu'elle appartient au phénotype "sauvage" ou sensible. Si elle exprime un phénotype acquis de résistance identifiable on doit tenter d'en déterminer le mécanisme. Ces phénotypes sont souvent désignés par les initiales des antibiotiques devenus inactifs : ainsi une souche résistante à la kanamycine, à la tobramycine et à la gentamicine appartient au phénotype KTG [22].

Selon le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie 2019 :

Résistance naturelle : Exemples de entérobactéries

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatifs constituant l'une des plus importantes familles de bactéries.

Tableau 6 : Resistance naturelle chez les entérobactéries

Espèces	AM	AMIB	TIC/ PIP	C1G	FOX	CXM	GEN	IOB	TET	TIG	COL	NI1
<i>Enterobacterales</i>												
<i>C. freundii</i> , <i>C. braakii</i> , <i>C. murliniae</i> , <i>C.</i> <i>werkmanii</i> , <i>C. youngae</i>	R	R		R	R							
<i>C. amalonaticus</i> , <i>C.</i> <i>sedlakii</i> , <i>C. farmeri</i> , <i>C. rodentium</i>	R		R	R		R						
<i>E. aerogenes</i>	R	R		R	R							
<i>E. cloacae complex</i>	R	R		R	R						R*	
<i>E. hermannii</i>	R		R									
<i>H. alvei</i> , <i>H. paraalvei</i>	R	R		R							R	
<i>Klebsiella spp.</i> , <i>Raoultella spp.</i> , <i>C. koseri</i>	R		R									
<i>M. morgani</i>	R	R		R					R	R	R	R
<i>P. mirabilis</i>									R	R	R	R
<i>P. vulgaris</i> , <i>P. penneri</i>	R			R		R			R	R	R	R
<i>P. rettgeri</i>	R	R		R		R			R	R	R	R

Tableau 7 : Résistance naturelle des entérobactéries aux bêta-lactamines

	Groupe 0	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5
AML	S	S	R	R	R	R
TIC	S	S	R	S	R	S
AMC	S	S	S	R	R	S
C1G	S	S	S	R	R	R
C3G	S	S	S	S	S	S
Phénotype	Pas de bêtalactamase	C ase non exprimée	PBN	CBN	PBN et CBN	Céfuroximase
Bactéries	Salmonelle P. Mirabilis	E coli Shigella	Klebsiella C.koseri	Enterobacter Serratia C.Freundii Morganella Providencia	Yersinia	P.Vulgaris P.Penneri

GROUPE 0 : aucun gène codant pour une bêta-lactamase et donc sensible à toutes les bêtalactamines.

GROUPE 1 : céphalosporinase constitutive de très bas niveau , E coli et Shigella qui possèdent un gène ampC codant pour une céphalosporinase de la classe C d'Ambler donc résistante aux inhibiteurs

GROUPE 2 : espèces possédant une pénicillinase chromosomique constitutive exprimé à bas niveau .
le phénotype de résistance est caractérisé par une résistance aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines .

GROUPE 3 : céphalosporinase inductible comprend les espèces d'entérobactéries productrices de céphalosporinas AmpC , résistante aux inhibiteurs et inductible pour les bêtalactamines

GROUPE 4 : céphalosporinase inductible + enzyme sensible aux inhibiteurs.

GROUPE 5 : céfuroximase inductible [23]

Profil de résistance enzymatique par production de bêta-lactamases :

Tableau 8 : Résistance enzymatique par production de bêta-lactamases

	PBN	PHN	CBN	TRI	BLSE	CHN	Carbapénémase
AML	R	R	R	R	R	R	R
TIC	R	R	S	R	R	R	R
AMC	S	R	R	R	R	R	R
TCC	S	R	S	R	R	R	R
TZP	S	R	S	R	R	R	R
C1G	S	R	R	S	R	R	R
C2G	S	S	S	S	S	R	R
C3G	S	S	S	S	R	R	R
C4G	S	S	S	S	S/R	S/R	R
Carbapénèmes	S	S	S	S	S	S	R

BLSE : bêta-lactamases à spectre étendu , PBN :Pénicillinase bas niveau , PHN : Pénicillinase haut niveau , CBN : Céphalosporinase bas niveau , CHN : Céphalosporinase haut niveau , TRI : penicillinase resistant aux inhibiteurs

Ex β-Lactamase à Spectre Etendu : BLSE pénicillinases, qui après mutation des gènes initiaux parentaux sont devenues actives sur un grand nombre de les β-lactamines (sauf l'imipénème). Elles sont partiellement inhibées par l'acide clavulanique, présente une résistance pour : AML , TIC , AMC , TCC , TZP , C1G , C3G

Matériel et Méthodes

1-type d'étude

Il s'agit d'une étude Prospective concernant tous les antibiogrammes réalisés durant le mois d'Avril, dans le laboratoire de l'Hôpital Militaire Moulay Ismail HMMI Meknès

2. Matériel

Origine des prélèvements : hospitalières, communautaires (externe) , Toutes les cultures positives issues des différents prélèvements : Urinaires (ECBU) , respiratoires (ECBC , PDP ,...) , génitaux (vaginaux et urétrales) , ponctions (LCR, pleurale,...), pus et hémocultures. On a exclu les prélèvements pour la recherche des Mycobactéries , Mycoplasme et Chlamydia.

3-Méthodes

Protocole technique d'antibiogramme

3-1 Milieux de cultures

L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, la gélose de Mueller-Hinton pour les bactéries non exigeantes (Entérobactéries, BGN non fermentant, *Staphylococcus*), gélose au sang ou gélose au chocolat pour les bactéries plus exigeantes (*Streptocoques*, *Neisseria*, *Haemophilus*...)

3-2 Ensemencement

L'ensemencement se fait par écouvillonnage, à l'aide d'un écouvillon stérile on prend quelques colonies à partir de l'isolement (culture pure), L'inoculum est contrôlé visuellement, puis on réalise un ensemencement par tapis sur la gélose en frottant l'écouvillon sur toute la surface de la gélose et en tournant la boîte 3 fois de 45°.

3-3 Choix et dépôt des disques ATB

Après l'ensemencement, on applique des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotiques à l'aide d'un distributeur ou d'une pince stérile, deux listes distinctes sont présentées : Liste standard (Les antibiotiques nécessaires à l'orientation thérapeutique); Liste complémentaire (en cas de souche multi-résistante) selon les recommandation de CA-SFM.

Le choix des disques et leur charge en antibiotique dépend du germe identifié par les méthodes conventionnelles.

On distingue plusieurs listes de disque pour : les Entérobactéries, BGN non fermentant, *Staphylococcus*, *Streptocoques*, *Entérocoques*, *Neisseria*, *Haemophilus*.

Antibiotiques disques	Charges	Antibiotiques disques	Charges
Érythromycine E	15 µg	Pénicilline G P	1 UI
Clindamycine DA	2 µg	Amoxicilline / ac. Clavulanique AMC	2 / 1 µg
Quinu / Dalfo –pristine QD	15 µg	Oxacilline OX	5 µg
Linézolide LZD	10 µg	Céfoxitine FOX	30 µg
Cotrimoxazole SXT	175 / 25 µg	Gentamicine CN	10 µg
Fosfomycine FF	200 µg	Ciprofloxacine CIP	5 µg
Acide fusidique FA	10 µg	Ofloxacine OFX	5 µg
Tétracycline TET	30 µg	Kanamycine K	30 µg

Figure 7 : Exemple de listes des antibiotiques testés pour *staphylococcus*

3-4 Incubation

Après l'application des disques, on les incube idéalement dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min. tout en respectant des conditions spécifiques d'incubation dans une étuve : Température 37c, Mode respiratoire, Besoin en CO2 5-10%, Croissance rapide/lente.

3-5 Lecture et interprétation

Après 24-48 heures d'incubation à 37°C , La lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition avec une règle, cette distance est comparé au diamètre de référence dans les recommandations de CA-SFM :

- Si le diamètre mesuré est inférieur au diamètre correspondant à la concentration critique supérieure, la souche est **Résistante**.
- Si le diamètre mesuré est supérieur au diamètre correspondant à la concentration critique inférieure, la souche est **Sensible**.
- Si le diamètre mesuré est compris entre les diamètres correspondant aux deux concentrations critiques, la souche est de sensibilité **Intermédiaire**.

Les phénotypes de résistances sont déduits et compare aux résistances naturelles et valider par le biologiste responsable.

Identification bactérienne

Milieu chromogène: C'est un milieu non sélectif permet l'isolement avec une coloration spécifique des bactéries par mise en évidence d'activités enzymatiques, C'est un milieu qui fournit des indications qui aident lors de l'interprétation des antibiogrammes .



Figure 8 : Milieu chromogène

Agglutination de latex : C'est un test rapide d'agglutination au latex pour l'identification de *Staphylococcus aureus* il se présente sous forme de particules de latex jaunes recouvertes de fibrinogène et d'immunoglobulines G (IgG) de lapin spécifiques anti-*S. aureus*. Lorsqu'une goutte de réactif est mélangée avec des organismes *S. aureus* sur une carte de réaction, une agglutination rapide apparaît.



Figure 9 : Agglutination de latex

Galerie API : Formé de 20 microtubes permet l'identification biochimique des Enterobacteriaceae et des bactéries non fermentant (API 20^F) Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs, il existe aussi d'autres types de galeries : API 20NE , API 20 Strepto.



Figure 10 : Exemple de Galerie Api 20^e : Enterobacter cloacae

Contrôle de qualité :

Pour vérifier l'exactitude des résultats des tests de résistance, il est important d'inclure au moins une souche de référence (ATCC 25922 est la souche de référence E. coli utilisée pour le test de résistance des Enterobacteriaceae).

Méthode statistique :

Les résultats sont traités par Excel pour calculer des pourcentages et réalisation des graphes.

Résultats et discussion

1-Population étudié

Nous avons mené une étude prospective durant une période d'un mois s'étendant du 1 avril à 30 avril 2019. Celle-ci a porté sur tous les antibiogrammes réalisés à partir des différents prélèvements bactériologiques, au Laboratoire de l'Hôpital Militaire Moulay Ismail de Meknès (HMMI). L'effectif étudié comprenait 154 antibiogrammes.

2-pourcentage de culture positives

Durant le mois d'avril, le service de bactériologie du laboratoire de l'HMMI a reçu 946 prélèvements dont 154 ont été positives soit un pourcentage de 16% de culture positives (figure 11). Ce résultat corrobore les données de la littérature qui indiquent que le pourcentage des cultures positives varie de 10-40 % en fonction du site de prélèvement.

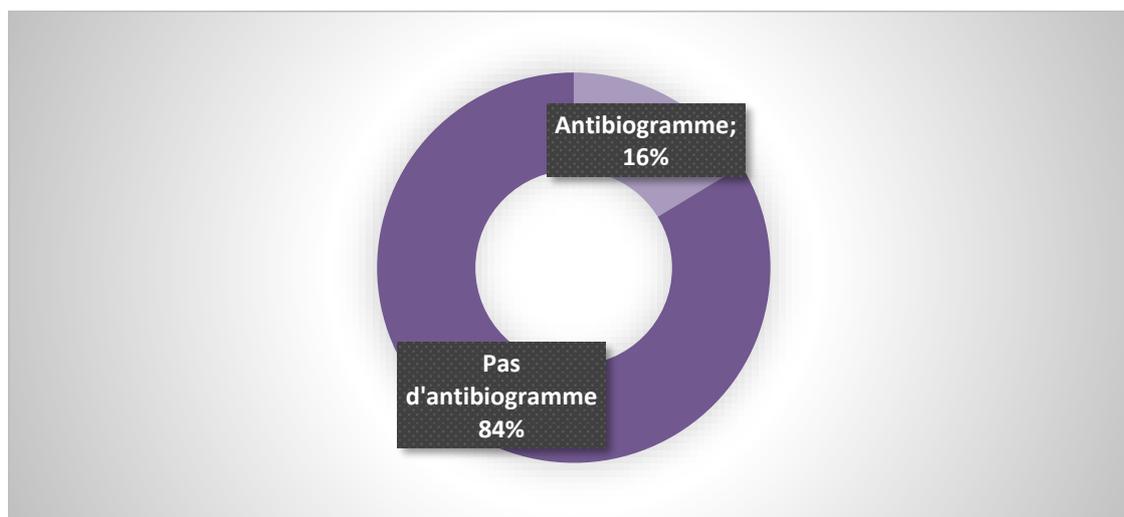


Figure 11: pourcentage de culture positives

Pour ces 154 cultures les antibiogrammes ont été réalisés. il existe des seuils spécifiques selon la nature des prélèvements qui détermine la nécessité d'antibiogramme :

Dans les prélèvements suivants (site d'infection stérile), même si un traitement empirique est déjà mise en place, l'antibiogramme doit être réalisé d'une manière systématique: hémoculture , liquide céphalo-rachidien , prélèvements d'origine respiratoire haute et basse , cathéters , coproculture , liquides de ponctions , prélèvement ostéoarticulaire , et toute infections liée aux soins.

Ainsi , L'antibiogramme est inutile dans les cas suivants :

- Chaque fois que la souche isolée ne peut être considérée comme responsable de l'infection qui a suscité le prélèvement : germe commensal ou contaminant (streptocoques oraux dans un expectoration, Bacillus dans une seule hémoculture), quand le nombre d'UFC/ml est inférieur au seuil significatif.
- Si la souche isolée peut être considérée comme pathogène, mais fait partie des espèces habituellement sensible au traitement de référence ou qu'il n'existe aucune corrélation in vitro -in vivo (*Legionella*).
- Dans les infections cutanées pour lesquelles le traitement est local ou chirurgical.[9]

3-Répartition des antibiogrammes selon les données des patients

Selon le Sexe : Le nombre des Antibiogrammes ayant été réalisé chez les hommes (n=89) étaient supérieur à celui concernant les femmes (n=65), le sexe ratio H/F est 1,36 (tableau 9)

Tableau 9: Répartition des antibiogrammes selon le sexe

Sexe	Effectifs	Pourcentage (%)
Masculin	89	58
Féminin	65	42
Total	154	100

Ce résultat est en accord avec celui obtenu dans le service d'urologie à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech (2004 – 2006) où les femmes représentent 28,82% contre 71,17% de sexe masculin [26]. La prédominance du sexe masculin est due vraisemblablement au genre masculin qui domine dans la fonction militaire et pour laquelle sont dédiés les hôpitaux militaires.

Selon la catégorie de malades :

En effet les résultats de la répartition des antibiogrammes selon la catégorie de malades (tableau 11) ont montré que le nombre des antibiogrammes ayant été réalisé chez les militaires et leurs familles (n=142) (figure12) étaient supérieur à celui concernant les civils (n=12)

Tableau 10 : Répartition selon la catégorie des patients

Catégorie	Effectifs	Pourcentage (%)
Militaire	142	92,20
Civil	12	7,79
Total	154	100

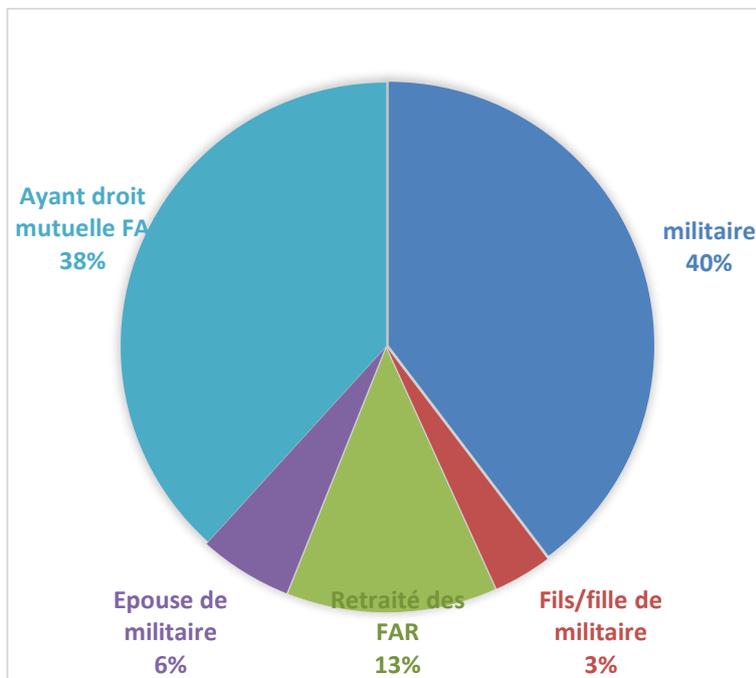


Figure 12 : Répartition des antibiogrammes selon la catégorie

Les militaires en activité représente majoritairement 40 % , suivie de ceux qui ont droit mutuelle FA 38 % ,ainsi les laboratoire de l’HMMI occupe aussi les retraités des FAR qui presente un pourcentage de 13% .puis les épouses de militaires présente 6% , et dernièrement Fils/fille de militaires 3 % (figure 12) . Cette répartition est normale car HMMI s’occupe essentiellement des militaires et leurs familles .

4-Répartition des antibiogrammes selon les services

Les antibiogrammes sont réalisés à 53,15 % des cas pour des prélèvements communautaire et 46.85% sont des antibiogrammes pour les services de l’hôpital (Tableau 11). Par ordre décroissant les services concernés la réanimation 15% (n=7) suivit par les services de Rhumatologie, Neurologie, Oncologie 11,36% (n=5) , ainsi les services de Gynécologie , Urologie 9,09% (n=4) puis Pneumologie ,Hémato-clinique , Viscérale 4,45% (n=2) et en dernier lieu on a les services de Cardiologie , Gastro-entérologie , Médecine interne , Traumatologie , ORL , Dermatologie , Vasculaire , Chirurgie plastique 2,27% (n=1).

Tableau 11 : Répartition des antibiogrammes selon les services

	Services	Nombre des cas positives	% de positivité		Services	Nombre des cas positives	% de positivité
	Externe	85	53,15		Urgences	31	19,37
M E D E C I N E	Rhumatologie	5	11,36	C H I R U R G I E	Traumatologie	1	2,27
	Neurologie	5	11,36		ORL	1	2,27
	Oncologie	5	11,36		Dermatologie	1	2,27
	Hémato-clinique	2	4,45		Gynécologie	4	9,09
	Pneumologie	2	4,45		Urologie	4	9,09
	Cardiologie	1	2,27		Viscérale	2	4,45
	Gastro-entérologie	1	2,27		Vasculaire	1	2,27
	Médecine interne	1	2,27		Chirurgie plastique	1	2,27
	Réanimation	7	15,90				

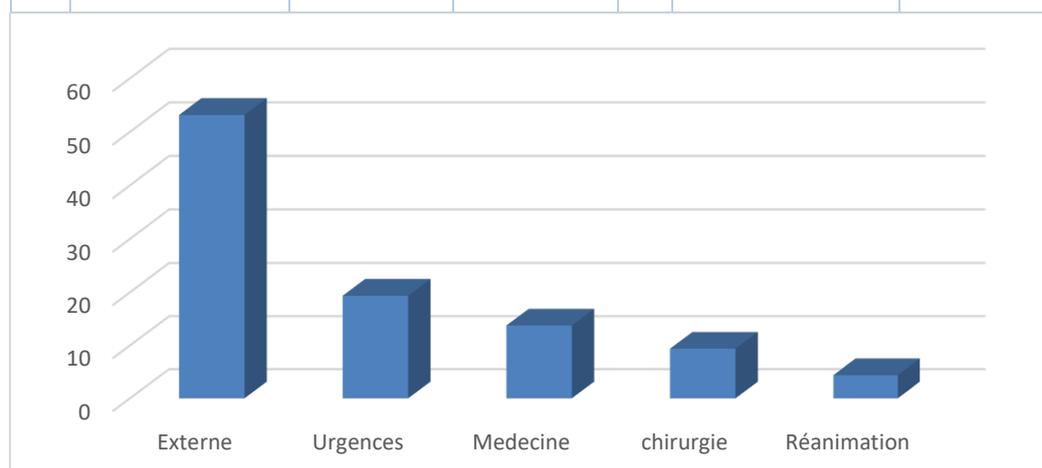


Figure 13 : Répartition des antibiogrammes selon les services

5-Répartition des antibiogrammes selon la nature du prélèvement

Les résultats obtenus pour la répartition des antibiogrammes selon la nature de Prélèvements (tableau 12) ont montré que les prélèvements urinaires (ECBU) sont majoritaires (106 antibiogrammes pour 628 prélèvement soit 16.72% de cultures positives),suivit par les pus (22 antibiogrammes pour 36 prélèvements soit 61.11%), les secrétions respiratoire (10 antibiogrammes pour 35 prélèvements soit 28,57 %) puis les hémocultures(6 antibiogrammes pour 60 prélèvements soit 10%) ,Prélèvement urétrale (6 antibiogrammes pour 16 prélèvements soit 60%), puis Prélèvement vaginale (3 antibiogrammes pour 16 prélèvements soit 18,75%) ,et enfin les ponctions pleurale (1 antibiogrammes pour 22 antibiogrammes soit 4,45%).

Tableau 12 : Répartition des antibiogrammes selon les prélèvements

Prélèvements	Effectif total	Antibiogramme	% de positivité
ECBU	628	106	16,72
Respiratoire	35	10	28,57
Hémoculture	60	6	10
Ponction pleurale	22	1	4,45
Pus	36	22	61,11
Vaginale	16	3	18,75
Urétrale	10	6	60

6-Répartition es antibiogrammes selon la souche bactérienne

D'après le tableau 13, on constate que *E coli* est la plus fréquemment isolée (38.96%), suivit par *streptococcus spp* (12,33%) , *Enterococcus feacalis* (7,14%) ,*Klebsiella pneumoniae* (6,49%) , *Staphylococcus aureus* et *non aureus* , *Acinetobacter baumannii* et *Klebsiella oxytoca* (5,19%) , puis *Pseudomonas aeruginosa* (3,89),*Enterobacter cloacae*(2,59%) , *Proteus Mirabilis* et *vulgaris* (1,94%) , *Enterococcus spp* (1,29 %) , et dernièrement , *Neisseria gonorrhoeae* , *Morganella morgani* et *Alcaligenes xyloisidens* (0,64 %).

Tableau 13 : Répartition selon la souche bactérienne

Germes	Effectifs	Pourcentages (%)
<i>Escherichia Coli</i>	60	38,96
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	5,19
<i>Staphylococcus non aureus</i>	8	5,19
<i>Streptococcus spp</i>	19	12,33
<i>Klebsiella oxytoca</i>	8	5,19
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	6,49
<i>Pseudomonas auroginosa</i>	6	3,89
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8	5,19
<i>Proteus Mirabilis</i>	3	1,94
<i>Proteus Vulgaris</i>	3	1,94
<i>Enterococcus spp</i>	2	1,29
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	2,59
<i>Enterococcus feacalis</i>	11	7,14
<i>Morganella morgani</i>	1	0.64
<i>Alcaligenes xyloisidens</i>	1	0.64
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	0.64
Total	154	100

L'isolement de *E coli* comme bactérie dominante semble être en relation avec la nature du prélèvement. En effet les ECBU (examen cytobactériologique des urines) sont les plus fréquents (106 antibiogrammes) et on sait que dans ce genre de prélèvement (urines) se sont les *E coli* qui dominent à plus de 80 % .

7-Répartition des antibiogrammes selon l'affinité tinctoriale :

Les bacilles à Gram négatif sont isolés à 68.18%, suivit par les Cocci à Gram + isolés à 31.17% et en dernier on retrouve les Cocci à Gram négatif qui ne représente que 0.65% (tableau 14).

Tableau 14 : Répartition selon l'affinité tinctoriale

Affinité tinctoriale	Les germes	Effectifs	Pourcentages (%)
Cocci Gram+	<i>Staphylococcus spp</i> <i>Streptococcus spp</i> <i>Enterococcus spp</i>	48	31,17
Cocci Gram -	<i>Neisseria</i>	1	0,65
Bacille Gram -	<i>E coli</i> <i>Klebsiella spp</i> <i>Acin etobacter baumannii</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Proteus spp</i> <i>Alcaligenes xyloisidens</i>	105	68,18
Total		154	100

En comparant notre résultat avec une étude pratiquée au laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed-V de Rabat au Maroc de janvier 2005 à décembre 2005, selon cette dernière Les bactéries à Gram négatif (BGN) représentent 88,4 % des isolats, les Cocci à Gram positif (CGP) représentaient 11,6 % des souches [27] . On constate que dans notre étude il y a plus de Cocci gram + (31,17%) contrairement à l'autre étude qui a trouvé durant sa période d'étude 11,6% des souches Cocci gram + , cette différence peut être expliquée par le fait que notre étude comprend des prélèvements autre que l'ECBU contrairement à l'étude comparé , comme les pus , dans la plupart de ces derniers , on a isolé des streptocoque (Cocci Gram+) , ceci a permis d'augmenter l'effectif des Cocci Gram+ dans notre étude , ainsi on note l'absence des bacilles Gram + , qui s'explique par le fait que ces bactéries sont rarement pathogène.

8-Profil de résistance pour chaque famille d'antibiotiques

Comme le montre la figure 14, nous avons remarqué que la résistance bactérienne varient en fonction de la famille d'antibiotiques testées , le taux de résistance le plus élevé est observé chez les pénicillines avec un taux varie entre 86% et 61 % , pour les céphalosporines le taux de résistance varie entre 13-59% , pour les carbapénèmes , on observe un taux de résistance faible 6-7% , les quinolones qui sont très utilisé présente un taux de résistance entre 39-45% , ainsi on note pour la colistine , chloramphénicol , vancomycine et teicoplanine Absence de résistance.

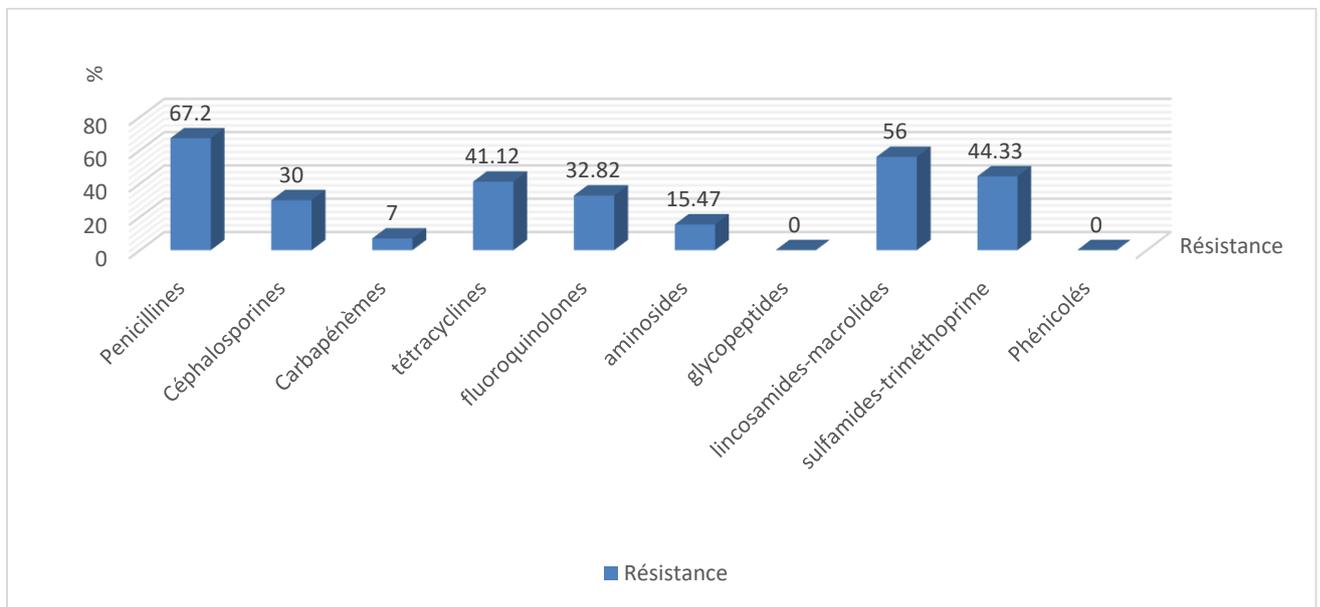


Figure 14 : Profil de résistance de chaque famille d'antibiotique

9- profil de résistance des principaux germes isolés aux antibiotiques testés

9-1 *E coli*

Selon la figure 15 , on remarque que le taux de résistance le plus élevé est représenté par les pénicillines qui varie entre 61 et 78 % , pour les céphalosporines le taux de résistance est entre 59% et 13% , les fluoroquinolones présente un taux moyen de résistance varie entre 38% et 28% , les aminosides présente un taux faible d'un moyen de 12% , et en dernier lieu on a les carbapénèmes et la colistine qui présentent par contre une grande sensibilité.

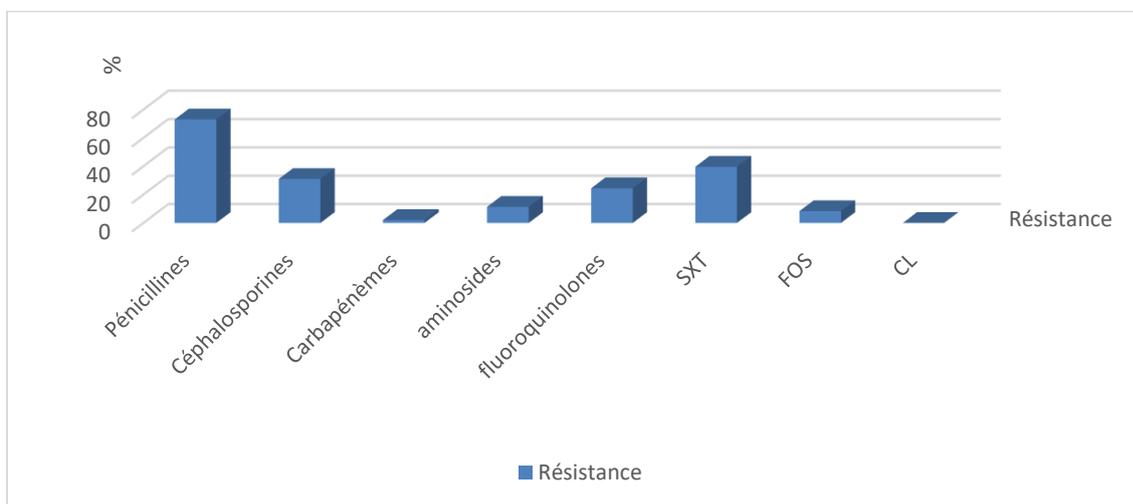


Figure 15 : Profil de résistance chez *E coli*

Une récente étude menée par El bouamri MC à hôpital militaire et universitaire Avicenne de Marrakech, sur le Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes et conséquences thérapeutiques , à révéler que L'antibiorésistance des souches d'E. coli 2014 a mis en évidence des taux moyens de résistance à l'amoxicilline (65 %), au «

SXT » (55 %), à l'AMC (43 %), à la ciprofloxacine (22 %), à la gentamicine (14 %), aux nitrofuranes (11 %), à l'amikacine (8 %), à la fosfomycine (7 %) et à l'imipénème (0 %) [26].

9-2 *Pseudomonas aeruginosa*

Comme le montre la figure 16, *P aeruginosa* présente un taux de résistance élevé pour la SXT, FOS et la Tigécyclines, contrairement aux aminosides et les polymyxine représenté par la colistine(CL) qui ne présente aucune résistance, pour les bêtalactamines, il présente un taux de résistance de 30%, ainsi les fluoroquinolones présente un taux faible de résistance de 9%.

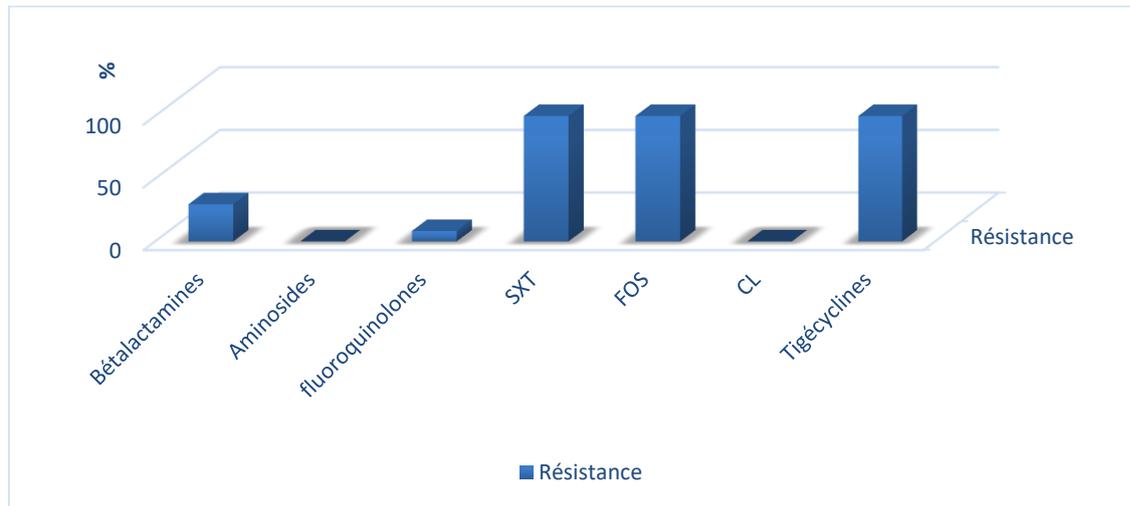


Figure 16 : Profil de résistance chez *P.aeruginosa*

D'après une autre étude réalisé sur l'Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des isolats de *Pseudomonas aeruginosa* dans un hôpital pédiatrique marocain 2014, L'amikacine était l'antibiotique le plus actif (6% de résistance) suivie par l'imipénème (11%) et la ciprofloxacine (13%), Ticarcycline (2%). La résistance à la céftazidime était de 15%. Aucun cas de résistance à la colistine n'a été enregistré [29].

On constate que les résultats sont un peu proches, en prenant en considération le facteur de temps puisque *P aeruginosa* peut acquérir facilement et rapidement de nouvelles résistances, le nombre des souches isolés sont faible, ainsi l'épidémiologie change selon la région concernée.

9-3 *Staphylococcus aureus*

D'après la figure 17, on remarque que les souches de *S aureus* isolés présente un taux de résistance élevé pour la Pénicilline G 96%, pour l'Oxacilline 44%, glycopeptides, licosamides, Fosfomycine et le linézolide ne présente aucune résistance, avec un taux de résistance qui varie entre 30% et 14% pour les fluoroquinolones, les aminosides et le SXT.

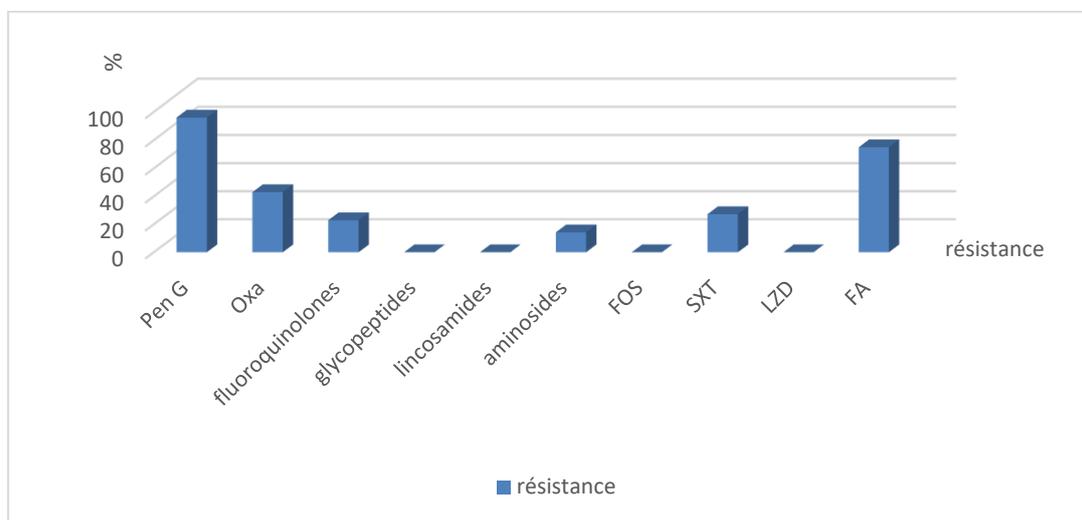


Figure 17 : Profil de résistance chez *S.aureus*

une autre étude effectuée en 2003 au Nord du Liban sur la Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* a révélé que , 96 % *staphylococcus aureus* sont résistantes à la pénicilline G par production du pénicillinase. L'acide clavulanique a restauré l'activité de l'amoxicilline chez 29 %. Le taux moyen de souches résistantes est de 34 % à l'amikacine, 11 % à la gentamicine, 30 % à la tétracycline, 7% à l'érythromycine, 4,04 % au clindamycine, 20 % au triméthoprime-sulfaméthoxazole et 0 % au vancomycine [30], ce sont des valeurs un peu proches à notre résultat, ainsi notre étude a montré 35 % du staphylococcus résistant au métricilline, ceci est liée au manque d'hygiène des mains.

9-4 *Acinetobacter baumannii*

D'après la figure 18 , *A baumannii* présente un taux de résistance élevé pour la plupart des antibiotiques , les bêtalactamines , fluoroquinolones , aminosides , SXT, Tigécycline ainsi , il présente un taux faible pour la rifampicine (10%) , et pas de résistance pour la colistine.

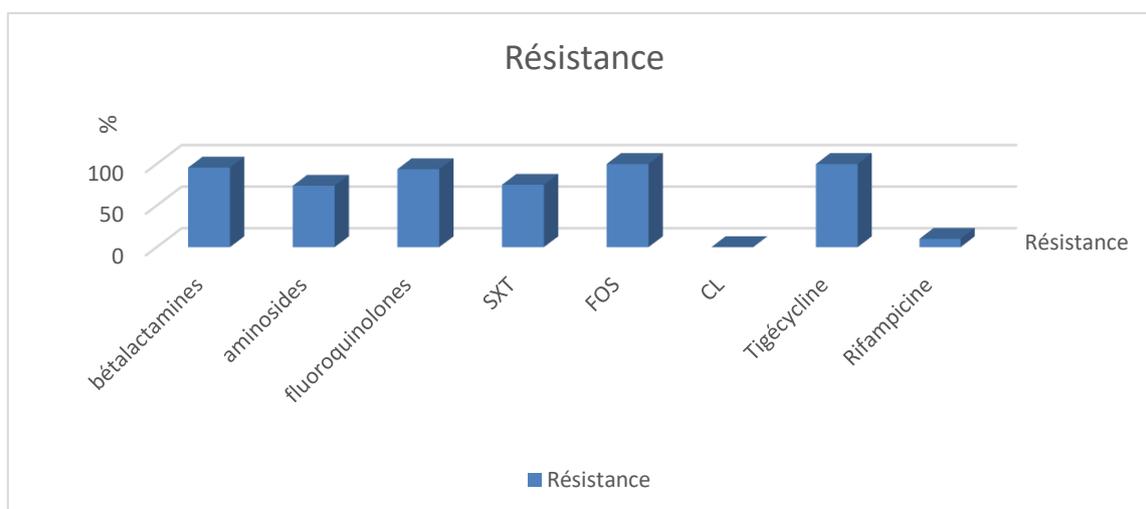


Figure 18 : Profil de résistance chez *A.Baumannii*

En comparant notre résultat avec une étude réalisée sur Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées dans la région de Mahdia en 2010, Dans cette étude, ils ont trouvés que la résistance à la ticarcilline (51,7 %), à la pipéracilline (58,4 %), celle à la céftazidime (55,2 %) ,à la ciprofloxacine (64,3 %) lévofloxacine (résistance : 78,2 %) , Tobramycine (64,9%) , Gentamycine (72%) , Amikacine (35,9%) , Colistine (0.9%) [28]

On constate que notre étude a révélé un taux de résistance aux antibiotiques plus élevé , en tenant compte que *A.baumannii*, d'une part, est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques et, d'autre part, il est doué d'une grande capacité adaptative lui permettant d'acquérir facilement et rapidement de nouvelles résistances , ainsi la plupart des *A.baumannii* isolés sont à l'état multirésistants.

10-Répartition selon les BMR

Selon la définition du Comité Technique National des Infections Nosocomiales (1999) «Les bactéries sont dites multi résistantes aux antibiotiques (BMR) lorsque du fait de l'accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique»

Durant le mois d'avril, on a trouvé sur 154 antibiogrammes, 26 souches qui présente une multi-résistante aux antibiotiques d'un pourcentage de 16,88% qui comprend 30,76% des SARM , 46,15% EBLSE , et 23,07% d'ABRI (Tableau 15).

Tableau 15 : Répartition selon les BMR

BMR	Effectif	Pourcentage (%)
SARM	8	30,76
EBLSE	12	46,15
ABRI	6	23,07
Total	26	100

En comparant notre résultat à un autre étude sur l'Epidémiologie des bactéries multi résistantes dans un service de réanimation polyvalente d'un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009 qui a trouvé que Parmi ces BMR, les *Acinetobacter* sp sont les bactéries les plus fréquemment isolées (n=40) suivi des entérobactéries productrices de BLSE (n=26), des entérobactéries sécrétrices de céphalosporinases hyperproduites (n= 8), de *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime (n=6), et enfin des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline SARM (n=4). [31], Contrairement dans notre étude on trouve que les EBLSE sont les plus fréquents suivi de SARM, puis les ABRI , main en tout cas on peut dire que les résultats sont un peu proche puisque notre étude s'étend à un mois seulement .

11-Avantages /inconvénient de la méthode utilisée

Tableau 16: avantages et inconvénients +causes d'erreurs de l'antibiogramme en milieu gélosé

Antibiogramme	
Avantages	Inconvénients
-Flexibilité , souplesse d'utilisation - Plaisir de la bactériologie traditionnelle -Largeur de gamme d'antibiotiques -Détection de nouveaux mécanismes -Contrôle de pureté-cout	-Conservation des réactifs -Manque de reproductivité -Gestion des stocks lourde-Manipulation fastidieuse -Lenteur d'obtention des résultats -Mauvaise diffusion de certaines antibiotiques
Principales causes d'erreurs	
Milieus de cultures	Disques
Autres que milieu de Mueller-Hinton- Croissance défectueuse-mauvaise conservation(dessication)-volume non respecté-milieu non horizontal	Mauvaise conservation en absence de dessiccateur-date de péremption dépassé- nombre de disques trop élevé (chevauchement des zones d'inhibition)-ensemencement non homogène

Conclusion

Le profil épidémiologique des souches bactériennes isolées au sein du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital militaire Moulay Ismail Meknès durant le mois d'avril 2019, période de notre stage a révélé 16% de positivité de culture ce qui correspond à 154 antibiogrammes réalisés dont le sex-ratio est de 1.36 en faveur des hommes appartenant à 92% au corps militaire. 69% des prélèvements sont pour des ECBU , 40 % des souches isolés sont des *Ecoli* et les BGN domine (68,18%). Le profil de résistance des isolats montre que les BMR(SARM , BLSE , ABRI) constituent 16,8% dont les BLSE 46,15% sont les plus fréquents et qui augmente chaque année, ainsi nous avons fait une étude sur le profil de résistance des bactéries isolés : *E coli* dans laquelle les pénicillines a montré le taux de résistance le plus élevé , *Staphylococcus aureus* où la pénicilline G a montré un taux de résistance très élevé , ainsi la céfoxitine représente une résistance de 35% , pour *A.baumannii* la plupart des antibiotiques présente un taux de résistance élevé puisque on a isolé majoritairement des multirésistants , pour *P.aeruginosa* le taux de résistance le plus élevé est présenté par différents antibiotiques tels que tigécyclines , SXT pour lesquelles cette bactéries présente une résistance naturelle. La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale entraînant des échecs thérapeutiques, ce qui explique l'importance de l'antibiogramme dans la détection de cette résistance.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Marcel, J. P. (2005). L'antibiogramme et son impact médical. *Antibiotiques*, 7(1), 53–58. doi:10.1016/s1294-5501(05)80166-9
- [2] Jehl, F., Chabaud, A., & Grillon, A. (2015). *L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? Journal Des Anti-Infectieux*, 17(4), 125–139. doi:10.1016/j.antinf.2015.08.003
- [3] Courvalin, P., Denis, F., Ploy, M.C., garilhe, M.P.D., Trieu-Culot, P., and Universalis. (2001) "Antibiotiques". Retrieved 24 Mai, 2013, from <http://www.universalisedu.com/encyclopedie/antibiotiques/>
- [4] Caruba, T., & Jaccoulet, E. (2015). Antibiotiques. *Pharmacologie et Thérapeutiques*, 47–56. doi:10.1016/b978-2-294-74634-5.00007-7
- [5] Buxeraud, J., & Faure, S. (2016). Les antibiotiques divers. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(558), 24–27. doi:10.1016/j.actpha.2016.06.005
- [6] Les antibiotiques. (2014). *Actualités Pharmaceutiques*, 53, S1–S5. doi:10.1016/s0515-3700(14)71366-7
- [7] Moatti, N. (1987). Les nouvelles beta-lactamines. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 17, 43–48. doi:10.1016/s0399-077x(87)80024-0
- [8] Pourbaix, A., & Guérin, F. (2016). Fosfomycine, place et intérêt dans un contexte de multirésistance. *Journal Des Anti-Infectieux*, 18(3), 85–97. doi:10.1016/j.antinf.2016.07.004
- [9] François JEHL .Monique CHOMARAt , Jacques TANKOVIC , Alain GÉRARD , De l'antibiogramme à la prescription, EDITION BIOMÉRIEUX octobre2012
- [10] Chaussade, H., Sunder, S., Bernard, L., Coloby, P., Guy, L., Karsenty, G., ... Bruyère, F. (2013). Les médicaments antibiotiques en urologie. *Progrès En Urologie*, 23(15), 1327–1341. doi:10.1016/j.purol.2013.09.001
- [11] Haskouri S. résistance aux antibiotiques : mécanismes et évolution. Thèse doctorat en pharmacie. Rabat : université mohammed V faculté de médecine et de pharmacie de rabat, 2002, 104p
- [12] Weiss K. la résistance bactérienne la nouvelle guerre froide. *Le médecin du québec*, 2002, vol37(3) n° 3 : 41-49.

- [13] Jean-Luc Aboya Moroh. Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Sciences agricoles. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2013. Français. ffNNT : 2013BRES0028ff.
- [14] Chardon, H. (2008). L'antibiogramme du pneumocoque. *Revue Francophone des laboratoires*, 2008(407), 45–59. doi:10.1016/s1773-035x(08)74867-6
- [15] *The Canadian Journal of Veterinary Research* 2014;78:000–000 *Compte rendu Review Article* 2014;78:110–116
- [16] Bull. Acad. Vét. France — 2008 - Tome 161 - N°1 www.academie-veterinaire-defrance.org
- [17] Parvery, F., Kouyoumdjian, S., Cottin, J., Carbonnelle, B., & Deshaies, P. (1976). Maintien de la qualité des antibiogrammes dans les grandes séries. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 6(8), 302–304. doi:10.1016/s0399-077x(76)80110-2
- [18] *Bactériologie médicale* © 2016, Elsevier Masson SAS
<https://www.sciencedirect.com/sdfe/pdf/download/eid/3-s2.0-B9782294746161000388/first-page-pdf>
- [19] Bertholom, C. (2014). Concentrations critiques des antibiotiques : définition, détermination. *Option/Bio*, 25(503), 14–15. doi :10.1016/s0992-5945(14)71642-3
- [20] Cavallo, J.-D., & Mérens, A. (2008). Spectre d'activité antibactérien d'un antibiotique et catégorisation clinique. *Pathologie Biologie*, 56(5), 300–304. doi:10.1016/j.patbio.2007.09.022
- [21] Jehl F, et al. L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? *Journal des Anti-infectieux* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.antinf.2015.08.003>
- [22]. Lahlou-Amine I. et Baaj A.J. résistance bactérienne aux antibiotiques. *Animalis*, 2002, vol 1(3) : 8-16
- [23] Institut de veille sanitaire. Alerte sur la résistance aux antibiotiques des entérobactéries en France : diffusion des entérobactéries productrices de bêtaactamases à spectre étendu (EBLSE) et émergence des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) [en ligne]. Journée européenne de sensibilisation au bon usage des antibiotiques. 20013 : 1-5.
- [24] Robina F. Gibolda L. Bonnetta, R. Résistances naturelles et acquises aux beta-lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? *revue francophone des laboratoires*. 2012, n° 445 : 47-58.

[25] El bouamri, M. C., Arsalane, L., Kamouni, Y., Yahyaoui, H., Bennouar, N., Berraha, M., & Zouhair, S. (2014). Profil actuel de résistance aux antibiotiques des souches d'Escherichia coli uropathogènes et conséquences thérapeutiques. Progrès En Urologie, 24(16), 1058–1062. doi:10.1016/j.purol.2014.09.035

[26] N. CHAFAI, Les infections urinaires à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech, THESE N°: 53, 2008

Annexes

Laboratoire de bactériologie HMMI



Annexe 1 : paillasse de travail



Annexe 2 : les étuves et les automates