



PROFIL MICROBIOLOGIQUE DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN RÉANIMATION ET ÉTAT DES RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Mémoire présenté par

Docteur MOUMNI MOHAMED BILAL

Né le 10/01/1991

Pour l'obtention du Diplôme de Spécialité

Option : BIOLOGIE MÉDICALE

Sous la direction de :

Professeur Ghita YAHYAOUÏ

Professeur MUSTAPHA MAHMOUD

Session 2022

Dr. Mustapha MAHMOUD
Professeur
Laboratoire Central de Biologie Médicale
CHU Hassan II - FES

REMERCIEMENTS

**À mon Maître, Professeur
MAHMOUD MUSTAPHA**

Professeur de Microbiologie

Chef de service du Laboratoire Central d'Analyses Médicales

Je vous serai à jamais reconnaissant de l'honneur que vous m'avez accordé en guidant ma formation durant ces quatre années passées dans votre service. Je n'aurai pu trouver un meilleur exemple que vous pour guider les premiers pas de ma carrière.

Durant tous ces mois, je n'ai pas eu seulement le privilège de travailler sous votre direction, de profiter de votre expertise sans égales, de vos compétences professionnelles incontestables, mais j'ai également pu être témoin de vos qualités humaines qui valent toute l'admiration et le respect des personnes ayant la chance de vous côtoyer et de travailler à vos côtés.

Veillez cher Maître, trouver en ce modeste travail l'expression de ma haute considération et de mon profond respect, et surtout de mon indescriptible gratitude pour la main que vous m'avez toujours incontestablement tendue.

**À mon Maître, Professeur
AMRANI HASSANI MONCEF**

Professeur d'Hématologie
Chef de Diplôme de Biologie Médicale

Votre professionnalisme et vos qualités humaines ont suscité en moi une grande admiration et un inébranlable respect dès le premier jour où j'ai eu la chance de travailler sous votre aile.

Votre charisme n'a d'égale que l'étendue de votre savoir et de vos connaissances. Vous êtes et serez toujours pour moi un exemple de rigueur, de droiture, et d'excellence dans l'exercice de la profession médicale. Je tiens à vous remercier pour la bienveillance et l'encouragement dont vous avez toujours fait preuve à notre égard durant toutes ces années.

Je vous prie, professeur, de trouver ici le témoignage de ma sincère reconnaissance et profonde considération.

À mon Maître, Professeur
YAHYAOUI GHITA
Professeur de Microbiologie

Vous m'avez honoré par votre confiance en me confiant ce sujet de mémoire. Je tiens à vous remercier pour tout le temps que vous m'avez accordé au fil des mois dans la rédaction de ce travail qui n'aurait pas pu voir le jour sans votre aide et sans les conseils fructueux que vous m'avez prodigué. Votre bonté, votre charisme, et votre compréhension ne peuvent que susciter une grande estime et un grand respect à votre égard. Votre sympathie, votre modestie, votre sens de l'écoute ont fait que je me sente à l'aise dès le premier jour où j'y ai commencé mes fonctions, tellement que je n'ai plus songé chercher ma voie ailleurs. Veuillez trouver ici, l'assurance de ma reconnaissance et de ma profonde admiration.

À mon Maître, Professeur

TLEMÇANI ZINEB

Professeur de Parasitologie et Mycologie

Je saisi cette occasion pour vous remercier de la chance et du privilège que vous m'avez octroyé en me permettant de travailler sous votre direction et de profiter de votre vaste champ d'expertise. J'espère avoir été à la hauteur de vos attentes. Puisse ce travail être à la hauteur de l'estime et du respect que j'ai à votre égard.

À mon Maître, Professeur

TLEMÇANI IMANE

Professeur d'Hématologie

Votre compétence, votre dynamisme, votre rigueur, vos qualités humaines et professionnelles ont toujours suscité en moi énormément de respect et d'admiration. Veuillez trouver entre les mots de ce travail, le témoignage de ma sincère reconnaissance et de ma profonde gratitude.

À mon Maître, Professeur

BENBELLA IMANE

Professeur de biochimie

J'ai eu l'honneur et la chance de bénéficier de ses connaissances et compétences, de ses précieux conseils et de son suivi tout au long de notre parcours académique. Ses conseils et critiques constructives, ses corrections, sa gentillesse et sa patience. Ainsi que sa rigueur scientifique impose l'estime et le respect. Je vous remercie infiniment.

PLAN

PROFIL MICROBIOLOGIQUE DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN RÉANIMATION ET ÉTAT DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

INTRODUCTION	9
MATÉRIEL ET MÉTHODES	12
I. MATÉRIEL :.....	13
1. Type d'étude :	13
2. Critères d'inclusion :.....	13
3. Critères d'exclusion :	14
II. MÉTHODES :.....	14
1. Recueil des données :.....	14
2. Phase pré-analytique :	14
3. Analyse microbiologique :.....	16
RÉSULTATS	27
I. Données épidémiologiques :.....	28
1. Âge :	28
2. Sexe :	28
II. Données microbiologiques :.....	29
1. Types d'échantillons reçus :.....	29
2. Examen direct :	30
3. Culture :.....	31
4. Infection poly-microbienne :.....	33
5. Profil microbiologique :.....	33
III. Études des résistances bactériennes aux principaux antibiotiques :.....	36
1. Profil de résistance d'Acinetobacter baumannii aux principaux antibiotiques :.....	36
2. Profil de résistance de Pseudomonas aeruginosa aux principaux antibiotiques :.....	39
3. Profil de résistance des principales entérobactéries aux principaux antibiotiques :.....	40
4. Klebsiella Pneumoniae :	41
5. Eschirichia Coli :.....	42
6. Détection du caractère BLSE :	43
7. Détection de la carbapénémase chez les entérobactéries :	44
8. Profil de résistance du Staphylocoque aureus aux principaux antibiotiques :	46
DISCUSSION	48
I. Répartition des principaux germes isolés.	49
II. Infection poly-microbienne :.....	52
III. Profil de résistance aux antibiotiques :.....	52
1. Acinetobacter baumannii :.....	52
2. Pseudomonas aeruginosa :	54
3. Entérobactéries :.....	56
4. Staphylocoque aureus :.....	58
CONCLUSION	60
BIBLIOGRAPHIE	67
RÉSUMÉ	63
ABSTRACT	65

INTRODUCTION

Les pneumopathies nosocomiales (PN) sont des infections respiratoires basses survenant 48 heures ou plus après l'hospitalisation, n'étant pas en phase d'incubation au moment de celle-ci et allant jusqu'à 7 jours après la sortie de l'hôpital [1, 2].

On parle classiquement de pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) lorsque l'infection survient plus de 48 heures après recours à la ventilation mécanique invasive (VMI) par intubation endo-trachéale. Ces infections constituent un problème majeur de santé publique à l'origine d'un accroissement du risque de morbidité, d'une prolongation du séjour hospitalier et d'une augmentation du risque de mortalité [1, 2, 3]. Leur fréquence de survenue est liée au caractère invasif des procédures de contrôle des voies aériennes et à la fragilité du terrain des patients hospitalisés dans les structures de soins intensifs. [3].

En fonction de leur délai de survenue, elles peuvent être qualifiées de pneumopathies nosocomiales précoces (PNP), survenant avant le 5^{ème} jour d'hospitalisation et qui relèvent le plus souvent d'un phénomène de colonisation des voies aériennes par la flore endogène du patient, ou de pneumopathies nosocomiales tardives (PNT), survenant après le 5^{ème} jour et qui sont alors le plus souvent secondaires à une contamination par des bactéries plus résistantes d'origine hospitalière [5, 6].

La prise en charge des pneumopathies nosocomiales constitue un véritable défi diagnostique et thérapeutique, doublé d'un enjeu économique important, et repose en grande partie sur l'antibiothérapie probabiliste à large spectre, avec désescalade thérapeutique suivant les résultats de l'antibiogramme.

La surveillance épidémiologique régulière permet de guider cette prise en charge et de définir une stratégie de prévention adéquate et adaptée au contexte.

De ce fait, nous nous sommes proposés de réaliser une étude microbiologique rétrospective et descriptive des échantillons respiratoires provenant des différents services de réanimation du CHU HASSAN II de Fès, sur une période de 4 ans, afin d'établir le profil bactériologique des pneumopathies nosocomiales dans notre hôpital. Nous avons aussi pour objectif de dresser le profil de résistance aux antibiotiques des germes les plus fréquemment rencontrés, et de suivre l'évolution de l'écologie des services de réanimation, afin de guider la prescription de l'antibiothérapie empirique chez les patients hospitalisés dans ces services.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. MATERIEL :

1. Type d'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive, observationnelle, s'étalant sur 4 ans du 1er Janvier 2018 au 31 Décembre 2021, menée au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU HASSAN II de Fès, concernant le profil microbiologique des pneumopathies nosocomiales rencontrés au sein de notre hôpital.

Nous avons recensé un total de 2115 échantillons respiratoires prélevés chez des patients admis aux différents services d'anesthésie-réanimation du même hôpital. Il s'agissait le plus souvent de prélèvements distaux protégés ou de crachats, et plus rarement, de lavages broncho-alvéolaires.

2. Critères d'inclusion :

Durant la période de l'étude, nous avons incluse tous les prélèvements respiratoires provenant de :

- ◆ Services de réanimation chirurgicale,
- ◆ Services de réanimation médicale,
- ◆ Service de réanimation pédiatrique et obstétricale,
- ◆ Service d'urgences adultes,
- ◆ Service d'urgences pédiatriques,
- ◆ Service d'unité de soins intensifs cardiologiques.

3. Critères d'exclusion :

Ont été exclus de l'étude :

- ◆ Prélèvements de type liquide pleural, malgré leur grande spécificité, du fait de leur faible sensibilité.
- ◆ Prélèvements de type aspiration endo-trachéale non protégés, car peu contributifs au diagnostic de PAVM et souvent contaminés par la flore commensale des sondes d'intubation.
- ◆ Prélèvements respiratoires provenant des services de médecine ou de chirurgie.
- ◆ Prélèvements respiratoires réalisés durant les 48 premières heures d'hospitalisation.

II. MÉTHODES :

1. Recueil des données :

Le recueil des données a été réalisé par analyse du registre de bactériologie des prélèvements respiratoires. Ont ainsi été collectés : l'index du patient, l'âge, le sexe, le service de provenance de l'échantillon, le type d'échantillon reçu, le résultat de la culture et le résultat de l'antibiogramme. Ces données ont été transcrites sur tableau Excel et classées selon la date.

2. Phase pré-analytique :

L'écueil majeur des prélèvements des voies respiratoires basses en bactériologie est la contamination par la flore oro-pharyngée. Ainsi, une attention extrême doit être portée aux conditions de recueil de ces prélèvements afin de minimiser la contamination salivaire (qui risque de diluer la flore pathogène et de la contaminer par des bactéries commensales) et une culture quantitative doit être effectuée [3].

Le recueil des prélèvements respiratoires s'effectue dans un récipient stérile, acheminé rapidement au laboratoire (idéalement en moins de deux heures), afin d'éviter la prolifération des bactéries de la flore commensale et la diminution de viabilité du pneumocoque. Idéalement, ce recueil s'effectue avant tout traitement antibiotique.

a) PDP :

Le prélèvement bronchique distal protégé a constitué le prélèvement de référence chez les patients intubés ventilés. Il était réalisé à l'aide d'un double cathéter introduit à l'aveugle à travers la sonde d'intubation ou la canule de trachéotomie jusqu'au niveau de la bifurcation trachéale. Après injection de 1 ml de sérum physiologique et réaspiration à la seringue, l'extrémité du cathéter était sectionnée aseptiquement et placée dans un tube stérile. Ses performances diagnostiques sont quasi-équivalentes aux prélèvements guidés par un fibroscope, et avec un risque moindre par rapport au broyage télescopique protégé. [39 ; 40 ; 41]

b) Crachats :

Le crachat était généralement réalisé le matin au réveil, après un rinçage buccodentaire à l'eau distillée stérile et lors d'un effort de toux (aidé au besoin d'une kinésithérapie respiratoire). Il présente l'avantage d'être non invasif, mais reste cependant souvent non contributif et source d'erreurs, sa facilité d'exécution entraînant souvent une contamination par la salive. [36 ; 37 ; 38]

c) LBA :

Le lavage broncho-alvéolaire (LBA) était effectué sous endoscopie, sous sédation au bloc opératoire, et est donc invasif. Il associait le plus souvent un objectif diagnostique mais aussi thérapeutique, et consistait à injecter puis à ré-aspirer du sérum physiologique via un fibroscope placé dans une bronche sous-segmentaire de 3^{eme} ou 4^{eme} génération. Des échantillons de 50 ml de sérum physiologique à 37° sont instillés en 4 à 6 fois, puis récupérés par aspiration, permettant de recueillir entre 20 et 60% de la quantité injectée. Il présente l'avantage d'explorer un vaste territoire pulmonaire, les bronchioles et plusieurs dizaines de millions d'alvéoles [12].

3. Analyse microbiologique :

a) Examen microscopique :

- Coloration MGG :

Avant ensemencement, un examen microscopique est effectué après coloration de May-Grümwald-Giemsa afin d'évaluer le nombre de cellules épithéliales et de leucocytes par champ microscopique au grossissement x40. D'après les critères de Bartlett, Murray et Washington, un prélèvement optimal doit contenir moins de 10 cellules épithéliales et plus de 25 cellules polynucléaires par champ. Un prélèvement contenant plus de 25 cellules épithéliales par champ est considéré comme contaminé par la salive et ne sera donc pas ensemencé. Les critères retenus sont détaillés dans le tableau I.

Tableau I : Critères de sélection des expectorations pour la poursuite de l'étude bactériologique [100]

Classe selon Bartlett-Murray et Washington	Cellules épithéliales/ champ	Leucocytes/ champs	Qualification
1	>25	<10	Refusé
2	>25	10-25	Refusé
3	>25	>25	Refusé
4	10-25	>25	Accepté
5	<10	>25	Accepté

- Examen direct :

Pour les différents prélèvements broncho-pulmonaires, le résultat de la coloration de gram est obtenu dans un délai court, (généralement moins d'une heure après l'arrivée au laboratoire) ; sa valeur prédictive positive est meilleure pour les prélèvements protégés (PDP+++), mais sa sensibilité dépasse rarement 50%. Pour les prélèvements non protégés (crachats), il est réalisé pour distinguer les flores mixtes des flores monomorphes, sachant que la présence de bactéries à l'intérieur des polynucléaires constitue un critère d'infection.

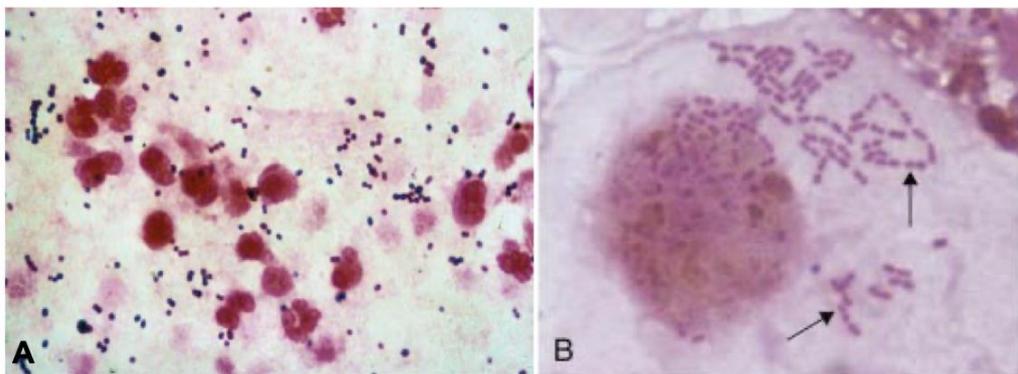


Figure 1 : Coloration Gram des sécrétions bronchiques

A, *Staphylococcus*. Coloration Gram des expectorations d'un patient atteint de pneumopathie staphylococcique montrant d'abondants cocci à Gram positif en grappe. B, Coloration de Gram d'un échantillon de PDP montrant des bacilles Gram négatif intracellulaires typiques des espèces d'entérobactéries tel que *Klebsiella pneumoniae* ou *Escherichia coli*.

b) Culture :

L'ensemencement des prélèvements respiratoires s'effectue de manière quantitative après fluidification du prélèvement et dilutions successives. Il est réalisé à l'aide d'une anse calibrée de 10 µL, en étoile, sur des géloses riches et sélectives : gélose au sang frais, gélose pour bacilles gram négatifs, et gélose au sang cuit additionnée de polyvitex. La recherche de certaines bactéries ne s'effectue que sur demande spécifique du fait de la nécessité d'une culture prolongée sur milieu spécifique (*L. pneumophila*, mycobactéries), ou d'une recherche par biologie moléculaire (*C. pneumoniae*, *M. pneumoniae*). Après incubation 24 à 48h, les colonies sont énumérées. Une colonie correspond à 10²UFC/ml de produits pathologiques (avec l'anse de 10µl). Chaque type bactérien dont la numération dépasse le seuil des 10³ UFC/ml pour les prélèvements respiratoires protégés sera identifié et soumis à un antibiogramme. Les prélèvements respiratoires non protégés (de type crachat), ont un seuil de significativité de 10⁷ UFC/ml.

c) Identification bactérienne :

L'identification des souches bactériennes a reposé sur l'étude des caractères morphologiques, culturels et biochimiques (fermentation des sucres, réduction des nitrates, recherche d'enzymes telle l'oxydase, l'ADNase, la catalase...). L'identification précise des bactéries (genre et espèce) a été réalisée par méthode automatisée sur Phoenix 100 de Becton Dickinson (Figure 3).



Figure 2 : Phoenix 100 de Becton Dickinson.

d) Détermination de la sensibilité aux antibiotiques :

Pour chaque souche, la sensibilité a été déterminée par un antibiogramme automatisé (Phoenix 100) en milieu liquide, et par antibiogramme standard par écouvillonnage selon la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller–Hinton.

Les critères de lecture et d'interprétation sont ceux du comité de l'antibiogramme de l'association française de microbiologie (CASFM/EUCAST 2020) [35]. La gélose Mueller–Hinton (MH), préparée localement, est employée lors de la méthode de diffusion en milieu gélosé pour les bactéries autres que celles à croissance lente.

La gélose MH-F additionnée de 5% de sang de cheval défibriné et de 20 mg/L de B-NAD, achetée prête à l'emploi, est employée pour streptococcus spp, haemophilus spp, listeria monocytogenes et autres bactéries à croissance lente.

La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des techniques les plus utilisées en routine. Les diamètres critiques de la méthode EUCAST sont établis en fonction des concentrations critiques européennes publiées par EUCAST et accessibles gratuitement sur le site de l'EUCAST (<http://www.eucast.org>).

- ◆ Préparation de l'inoculum : une suspension bactérienne est réalisée en solution salée pour atteindre une turbidité équivalente à 0,5 de la gamme de McFarland. Un spectrophotomètre est employé pour ajuster l'inoculum. Un inoculum trop lourd engendre des diamètres plus petits et inversement.
- ◆ Inoculation des géloses : un écouvillon en coton stérile plongé dans la suspension bactérienne est utilisé pour ensemercer la totalité de la surface de la gélose dans trois directions.
- ◆ Dépôt des disques imprégnés d'antibiotiques : Les disques d'antibiotiques sont fermement déposés à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le nombre de disques déposés par boîte est limité à 8 du fait du chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques.
- ◆ Incubation des boîtes de Pétri : Les boîtes de Pétri sont incubées dans les 15 minutes suivant le dépôt des disques, à 37° en présence de 5% de CO₂, en aérobiose, 18 à 24h.
- ◆ Lecture des boîtes après incubation : Un inoculum et un ensemencement correct doivent conduire à une culture confluite. Celle-ci doit être répartie sur toute la

**PROFIL MICROBIOLOGIQUE DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN RÉANIMATION
ET ÉTAT DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES**

surface de la gélose de façon à obtenir des zones d'inhibition circulaires.

- ◆ Mesure de la zone d'inhibition et catégorisation clinique : Les diamètres d'inhibition sont lus avec une règle, à l'œil nu, et sont interprétés par référence aux tableaux où figurent les concentrations critiques.

Antibiotiques testés pour les bacilles à Gram négatif lactose + :

Liste des antibiotiques testés		
Béta lactamines	Pénicillines	Ampicilline :AMP Amoxicilline : AML
	Inhibiteurs de Bétalactamase	Amoxicilline – Acide clavulanique : AMC
	Céphalosporines	Keflin : KF Cefotaxime : CTX Ceftriaxon : CRO Céfixime : CFM
	Carbapénèmes	Imipénème : IMP Ertapénème : ETP
Aminosides		Gentamicine : GN Amikacine : AK
Quinolones		Ciprofloxacine : CIP Norfloxacine : NOR Acide nalidixique : NA
Autres		Triméthoprimé–Sulfaméthoxazole : SXT Colistine : CT

Antibiotiques testés pour les bacilles à Gram négatif lactose – :

Liste des antibiotiques testés		
Béta lactamines	Pénicillines	Ampicilline :AMP Amoxicilline : AML Pipéracilline : PIP Ticarcilline : TIC
	Inhibiteurs de Bétalactamase	Amoxicilline – Acide clavulanique : AMC Ticarcilline – Acide clavulanique : TCC Pipéracilline – Tazobactam : TZP
	Céphalosporines	Keflin : KF Cefotaxime : CTX Ceftriaxon : CRO Céfixime : CFM Ceftazidime : CAZ
	Carbapénèmes	Imipénème : IMP Ertapénème : ETP
Aminosides		Gentamicine : GN Amikacine : AK
Quinolones		Ciprofloxacine : CIP Norfloxacine : NOR Acide nalidixique : NA
Autres		Triméthoprime–Sulfaméthoxazole : SXT Aztréoname : ATM Colistine : CT

Antibiotiques testés pour les staphylocoques :

Liste des antibiotiques testés		
Béta lactamines	Pénicillines	Pénicilline G : PG Oxacilline : OXA
	Céphalosporines	Céfoxitine : FOX
Macrolides		Erythromycine : E Lincomycine : MY
		Tétracyclines : TE
Cyclines		Gentamicine : GN
Aminosides		Ciprofloxacine : CIP Norfloxacine : NOR Acide nalidixique : NA
Glycopeptides		Vancomycine : Va Teicoplanine : Teic
		Triméthoprimé- Sulfaméthoxazole : SXT Acide fusidique : FD Colistine : CT

Antibiotiques testés pour les streptocoques :

Liste des antibiotiques testés		
Béta lactamines	Pénicillines	Ampicilline :AMP Amoxicilline : AML Oxacilline : OXA
	Inhibiteurs de bétalactamase	Amoxicilline – acide clavulanique : AMC
	Céphalosporines	Céfotaxime : CTX
Macrolides		Erythromycine : E Lincomycine : MY Spiramycine : SP
Aminosides		Gentamicine 500 : GN
Quinolones		Norfloxacin : NOR Lévoﬂoxacin : LEVO
Glycopeptides		Vancomycine : Va Teicoplanine : Teic
Autres		Triméthoprimé- Sulfaméthoxazole : SXT Optochine : OP

Antibiotiques testés pour Haemophilus spp :

Liste des antibiotiques testés		
Béta lactamines	Pénicillines	Ampicilline :AMP Amoxicilline : AML Penicilline G : PG
	Inhibiteurs de bêtalactamase	Amoxicilline – acide clavulanique : AMC
	Céphalosporines	Kéflin : KF Céfotaxime : CTX
Aminosides		Gentamicine : GN
Quinolones		Acide nalidixique : NA Ciprofloxacine : CIP Norfloxacine : NOR Lévofloxacine : LEVO
Cyclines		Tétracycline : TE
Autres		Triméthoprime–Sulfaméthoxazole : SXT

e) Recherche des bactéries multirésistantes

Dans notre étude, la recherche des bactéries multirésistantes (BMR) a concerné :

- ◆ Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM).
- ◆ Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (par production de bêtalactamase à spectre élargi BLSE ou de céphalosporinase inducible).
- ◆ Pseudomonas Aeruginosa résistant aux quinolones et à la Ceftazidime.

La recherche des bactéries hautement résistantes émergentes a concerné :

- ◆ SARM résistant aux glycopeptides.
- ◆ Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes
- ◆ Pseudomonas Aeruginosa résistant à l'imipenème
- ◆ Acitenobacter Baumanii résistant à l'imipenème

- Détection de la bêta-lactamase :

La détection de la bêta-lactamase à spectre étendue repose sur l'apparition d'une synergie en « bouchon de champagne » entre un disque de CTX, CAZ ou CRO et un disque contenant de l'acide clavulanique (ex : AMC) distants de 30 mm des disques de céphalosporine. La détection de la carbapénémase repose sur les tests moléculaires rapides.

- Détection de la carbapénémase :

La production de carbapénémase par une souche bactérienne était suspectée devant une diminution de la sensibilité à l'Ertapénème (diamètre d'inhibition < 25 mm par test de diffusion sur milieu gélosé). Toute souche suspecte était soumise à un screening génotypique par test moléculaire rapide.

- Détection des SARM :

La résistance à la céfoxitine était recherchée à l'aide d'un disque de Céfoxitine 30 ug dans les conditions standards de l'antibiogramme.

1. Diamètre de FOX < 22 mm : R
2. Diamètre de FOX > 22 mm : S

Les souches de staphylocoques résistantes à la Céfoxitine étaient interprétées résistantes à toutes les bêta-lactamines.

RÉSULTATS

I. Données épidémiologiques :

1. Âge :

La moyenne d'âge de nos patients était de 42 ans avec des extrêmes allant de 0 à 92 ans. La répartition des malades, représentée par la figure 1, montre une prédominance des tranches d'âge de 19 à 39 ans et de 40 à 59 ans ; elles correspondaient respectivement à 22% et à 40% de la population étudiée.

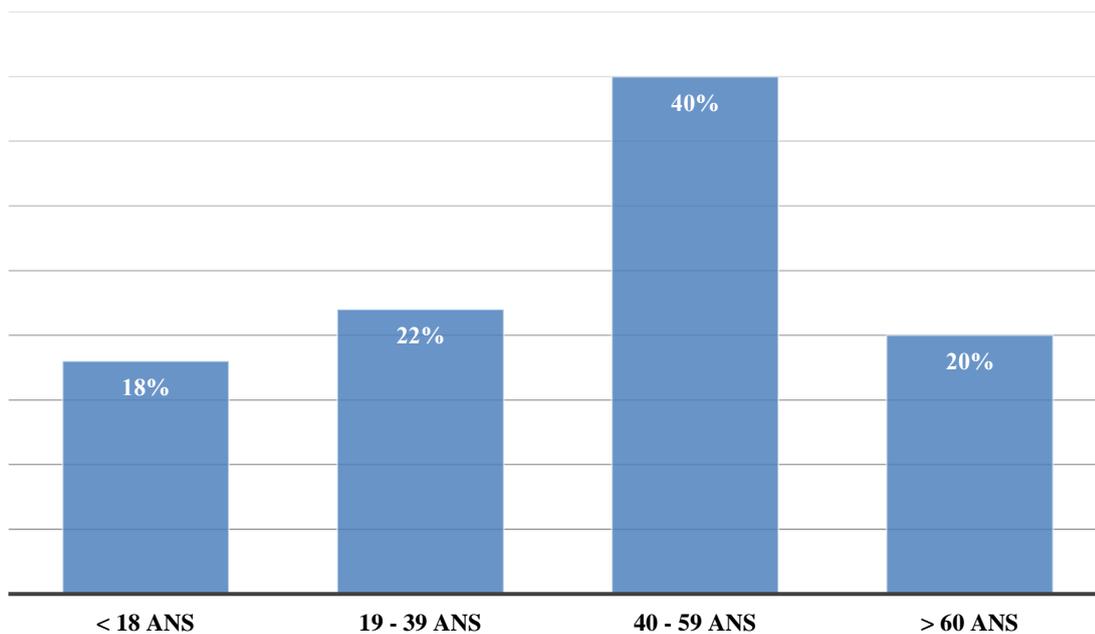


Figure 3 : Répartition des patients selon la tranche d'âge

2. Sexe :

730 patients ont été inclus dans l'étude. La population était majoritairement masculine, 472 hommes soit 65% et 258 femmes soit 35%. Le sexe ratio était donc de 1,83.

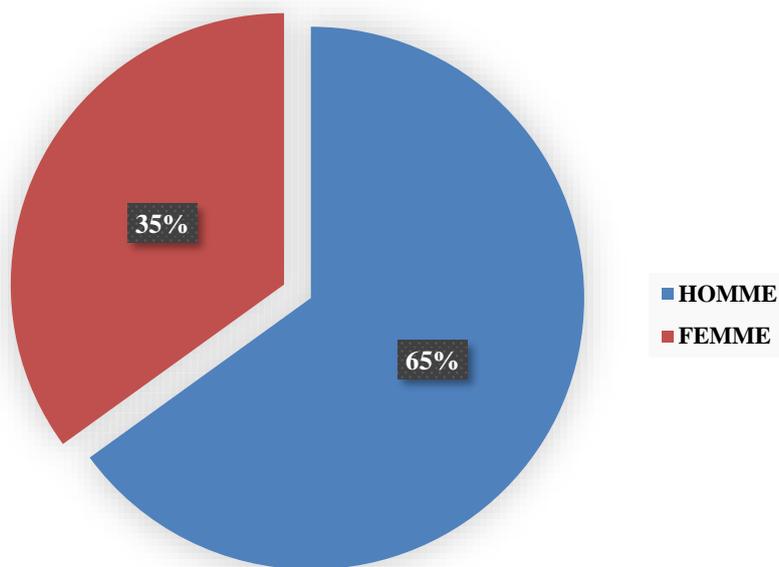


Figure 4 : Répartition des patients selon le sexe

II. Données microbiologiques :

1. Types d'échantillons reçus :

2214 échantillons respiratoires ont été reçus pendant la période d'étude :

- ◆ 1902 PDP
- ◆ 291 crachats
- ◆ 21 LBA

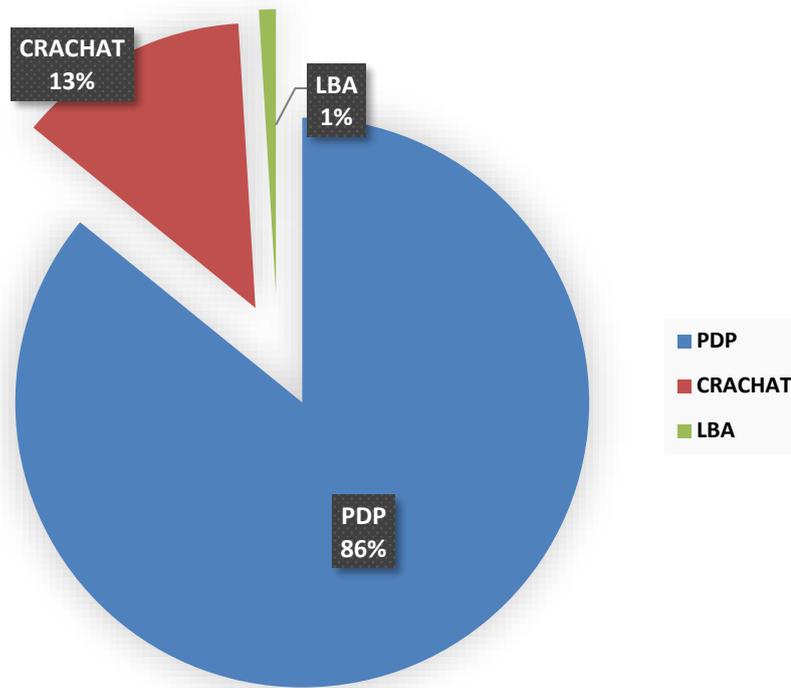


Figure 5 : Répartition des échantillons respiratoires reçus.

2. Examen direct :

L'examen direct avec coloration de Gram n'a été contributif que sur 424 prélèvements, soit 38% des 1116 échantillons positifs. Il a mis en évidence des BGN sur 290 d'entre eux, et des cocci gram positifs sur 134 échantillons. (Figure 4).

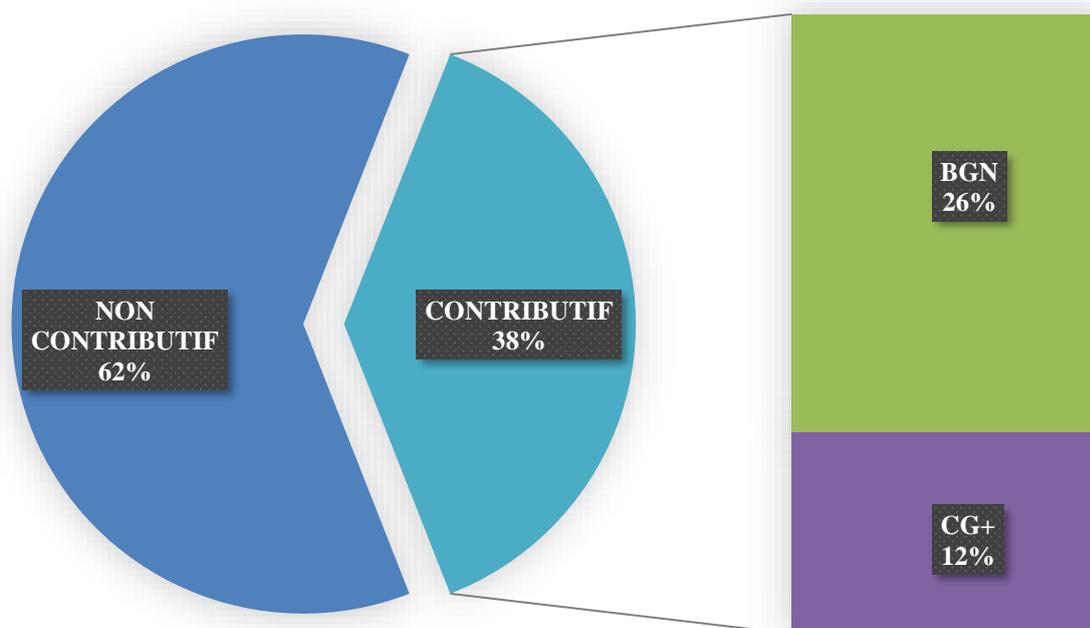


Figure 6 : Examen direct

3. Culture :

2214 échantillons respiratoires reçus :

- ◆ 1116 échantillons à culture positive
- ◆ 975 échantillons à culture négative
- ◆ 123 échantillons non concluants.

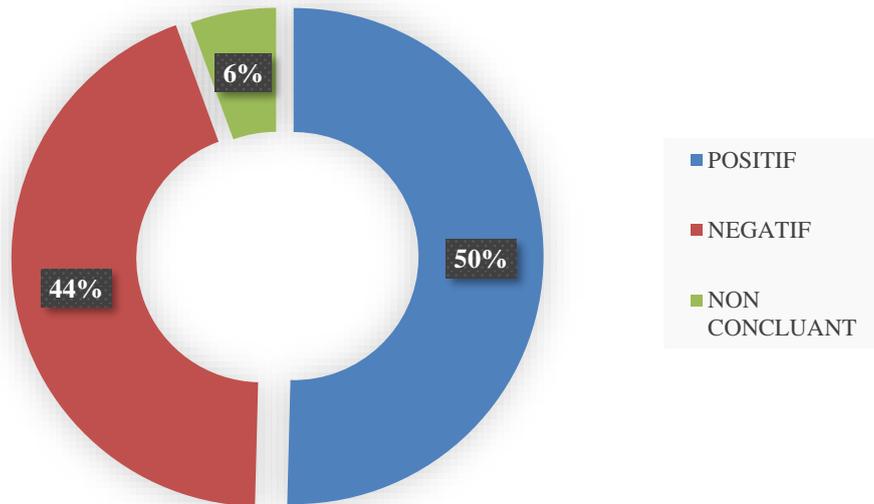


Figure 7 : Résultats de la culture microbienne

Les 123 échantillons non concluants correspondaient tous à des crachats considérés d'origine salivaire ou à culture polymorphe.

Ainsi, dans notre série, l'interprétation des ECBC reste délicate, dans la mesure où environ 42,3% des échantillons ont mis en évidence des bactéries considérés comme d'origine salivaire et qui ne doivent donc pas être pris en compte. (Figure 6).

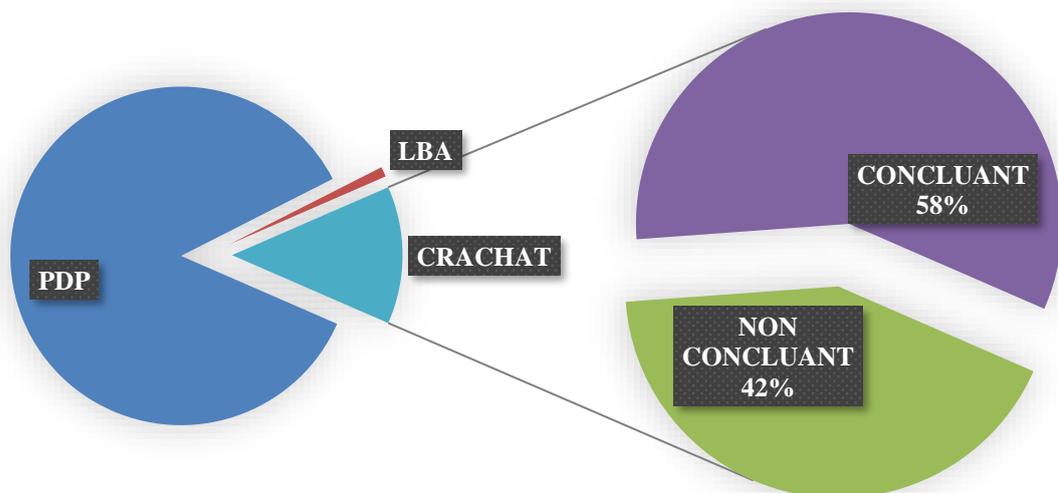


Figure 8 : Performances diagnostiques des crâchats

4. Infection polymicrobienne :

Le caractère polymicrobien était retrouvé dans 19% des prélèvements positifs : 2 germes dans 17% des cas et 3 germes dans 2% des cas.

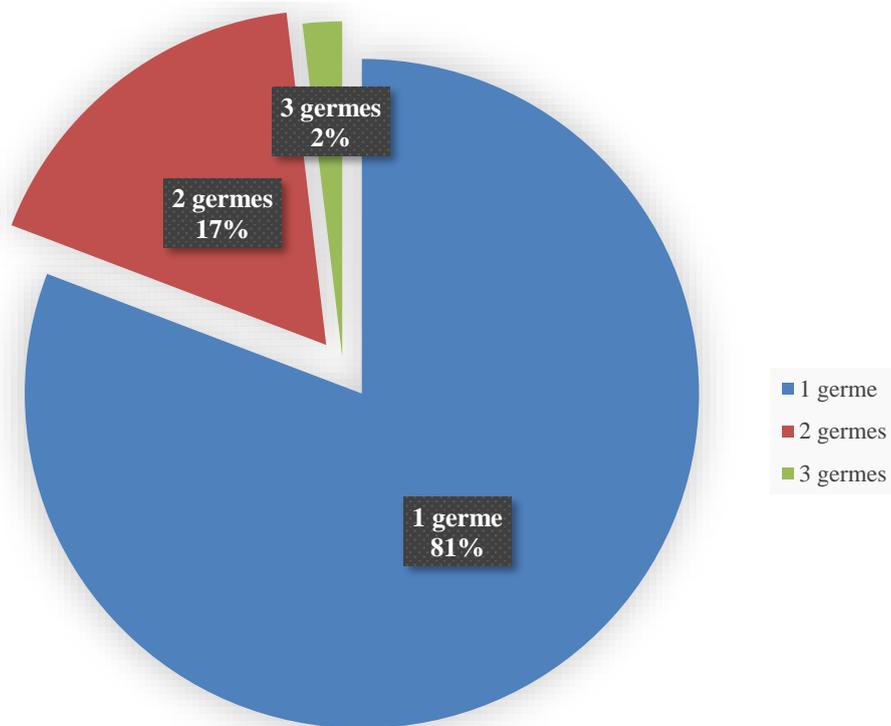


Figure 9 : Caractère polymicrobien des échantillons respiratoires

5. Profil microbiologique :

1255 souches bactériennes ont été isolées dans notre série, réparties en 18 espèces bactériennes. Les BGN non fermentaires étaient majoritaires avec 57% des souches isolées. Elles étaient suivies par les entérobactéries (26% des souches) et les cocci gram positifs (13% des souches).

TABLEAU 2 : RÉPARTITION DES SOUCHES ISOLÉES.

BACTÉRIES ISOLÉES	Année (Nombre total de germes)				
	2018	2019	2020	2021	Total
	268 (%)	341 (%)	238 (%)	408 (%)	1255 (%)
BGN NON FERMENTAIRES	156 (58%)	164 (48%)	140 (59%)	262 (66%)	722 (57%)
Acinetobacter Baumanii	112 (42%)	112 (33%)	108 (45%)	215 (53%)	547 (44%)
Pseudomonas Aeruginosa	41 (15%)	52 (15%)	32 (13%)	43 (11%)	168 (13%)
Morganella Morganii	2 (0,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (0,1%)
Stenotrophomonas Maltophilia	1 (0,3%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (2%)	5 (0,4%)
ENTEROBACTERIES	76 (29%)	98 (28%)	57 (24%)	94 (22%)	325 (26%)
Klebsiella Pneumoniae	34 (13%)	51 (15%)	43 (18%)	46 (11%)	174 (14%)
Klebsiella Oxytoca	2 (0,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (0,1%)
Eschirichia Coli	26 (10%)	41 (12%)	9 (4%)	30 (7%)	106 (8%)
Enterobacter Cloacae	10 (4%)	5 (1%)	3 (1%)	5 (1%)	23 (2%)
Enterobacter Aerogenes	1 (0,3%)	1 (0,3%)	1 (0,4%)	1 (0,2%)	4 (0,3%)
Serratia Marcescens	2 (0,7%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (1%)	6 (0,5%)
Proteus Mirabillis	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	7 (2%)	7 (0,5%)
Citrobacter Freundii	1 (0,3%)	0 (0%)	1 (0,4%)	1 (0,2%)	3 (0,2%)
AUTRES BGN	10 (3%)	19 (6%)	7 (3%)	11 (2%)	47 (4%)

PROFIL MICROBIOLOGIQUE DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN RÉANIMATION ET
ÉTAT DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Haemophilus Influenzae	9 (3%)	19 (6%)	7 (3%)	11 (2%)	46 (4%)
Haemophilus Parainfluenzae	1 (0,3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,1%)
CG+	26 (10%)	60 (18%)	34 (14%)	41 (10%)	161 (13%)
Staphylocoque Aureus	24 (9%)	59 (17%)	31 (13%)	41 (10%)	155 (12%)
Streptocoque Pneumoniae	2 (0,7%)	1 (0,3%)	2 (1%)	0 (0%)	5 (0,4%)
Enterocoque Faecalis	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,4%)	0	1 (0,1%)

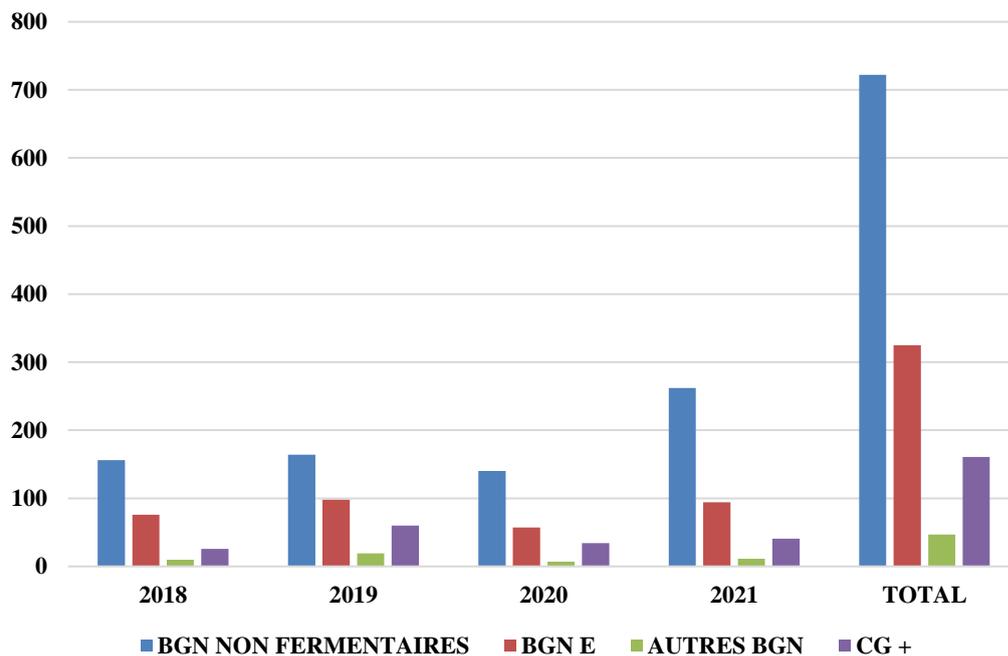


Figure 10 : Répartition par année des principales bactéries

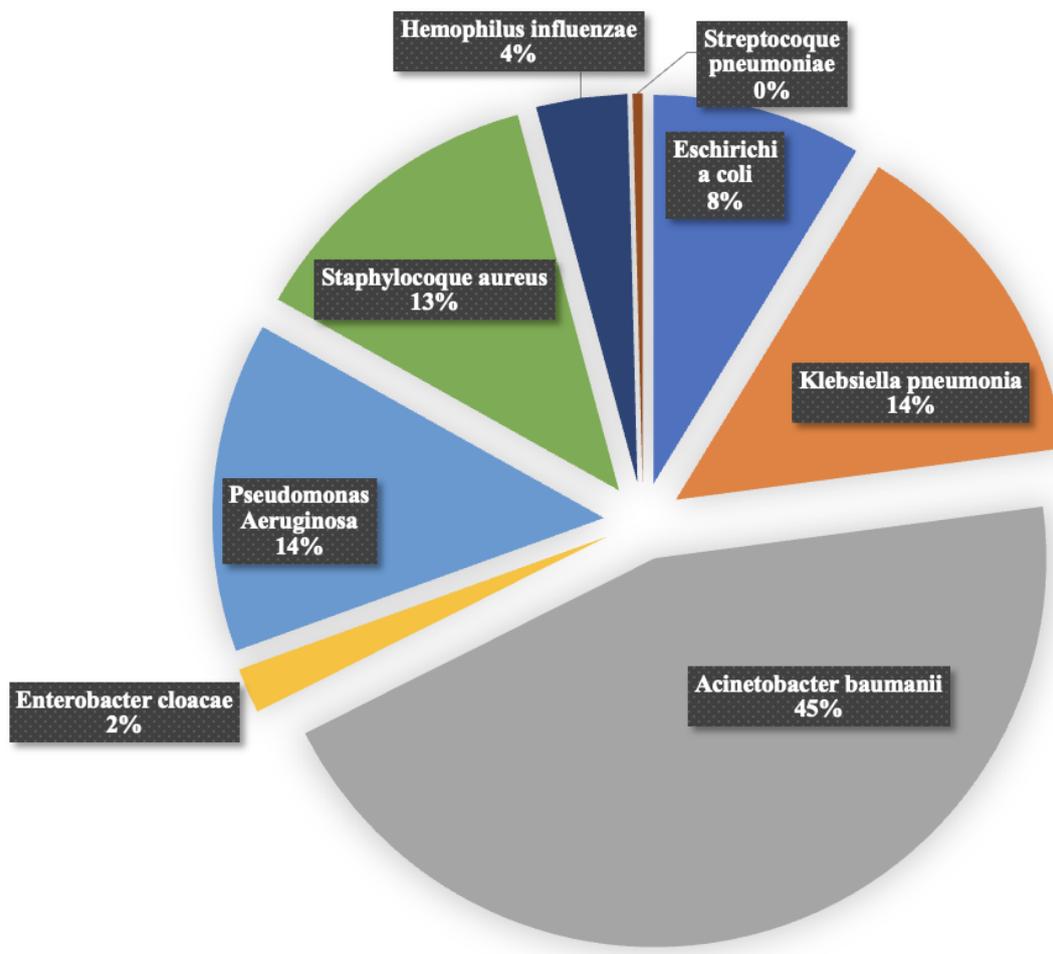


Figure 11 : Principales souches isolées

III. Études des résistances bactériennes aux principaux antibiotiques :

1. Profil de résistance d'Acinetobacter baumannii aux principaux antibiotiques :

Les isolats d'Acinetobacter baumannii (n=547) ont manifesté une résistance accrue à la majorité des antibiotiques testés. Le taux d'Acinetobacter baumannii résistant à l'imipénème (ABRI) était de 91%. L'antibiotique le plus actif sur ces isolats était la Colistine avec un taux de sensibilité de 100%. (Figure 9).

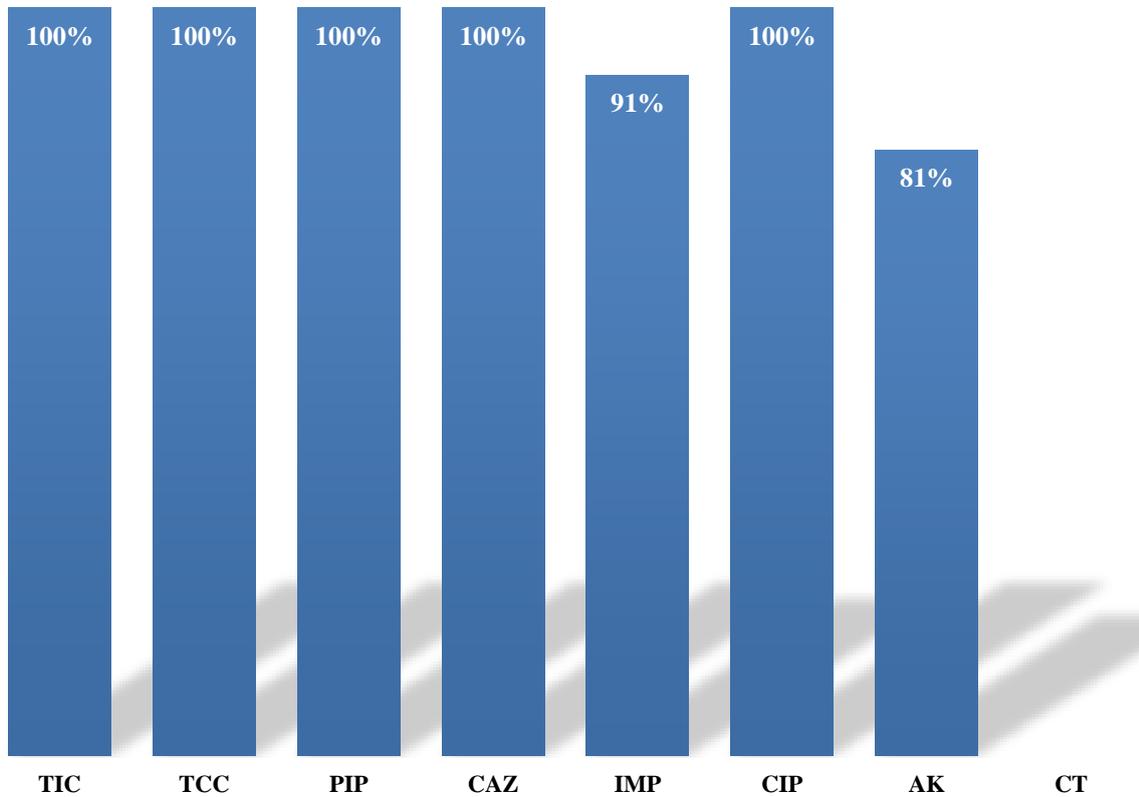


Figure 12 : Taux de résistance aux antibiotiques d'ACINETOBACTER BAUMANII

Nous avons noté une augmentation de la prévalence des ABRI, passant ainsi de 79% en 2018 à 97% en 2021. Cette augmentation est inversement proportionnelle à la diminution de la sensibilité vis-à-vis cette molécule. (Tableau 2 ; figure 10).

**Tableau 3 : Évolution de la résistance aux antibiotiques d'Acinetobacter baumannii
durant la période d'étude.**

	2018	2019	2020	2021
TIC	100%	100%	100%	100%
TCC	100%	100%	100%	100%
PIP	100%	100%	100%	100%
IMP	79%	88%	94%	97%
CAZ	100%	100%	100%	100%
CIP	100%	100%	100%	100%
NOR	100%	100%	100%	100%
AK	54%	70%	94%	94%
GN	100%	100%	100%	100%
CT	0%	0%	0%	0%

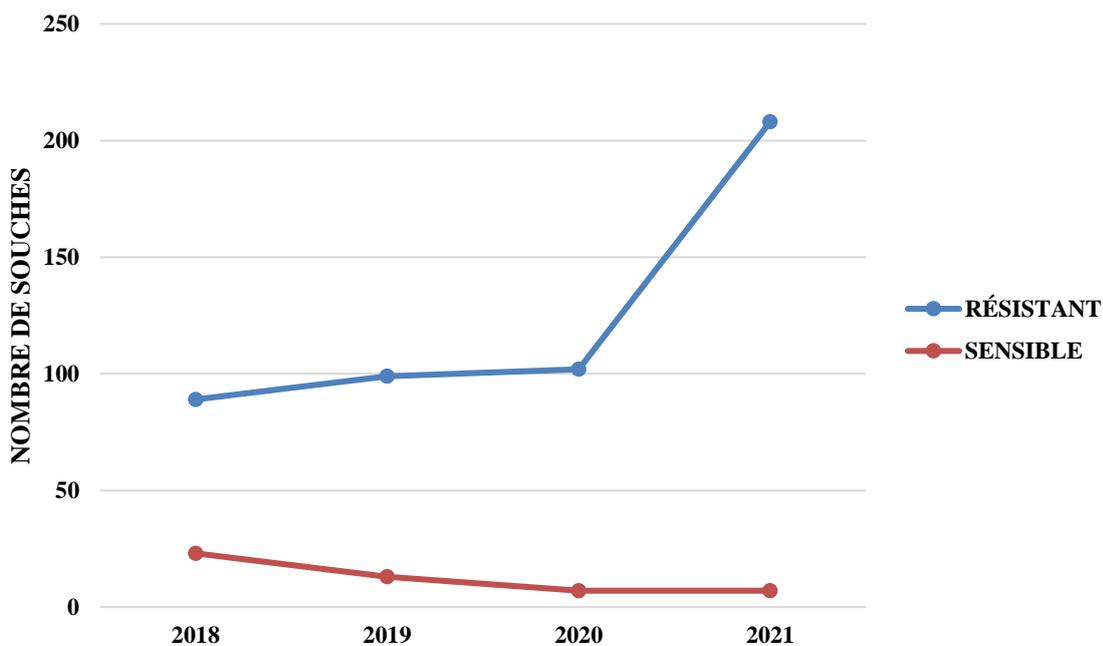


Figure 13 : Courbe d'évolution de la résistance d'Acinetobacter baumannii à l'imipénème

Notre étude a objectivé une augmentation continue de la résistance à l'Amikacine entre 2018 et 2021, passant de 54% à 94% des souches. (Figure 11).

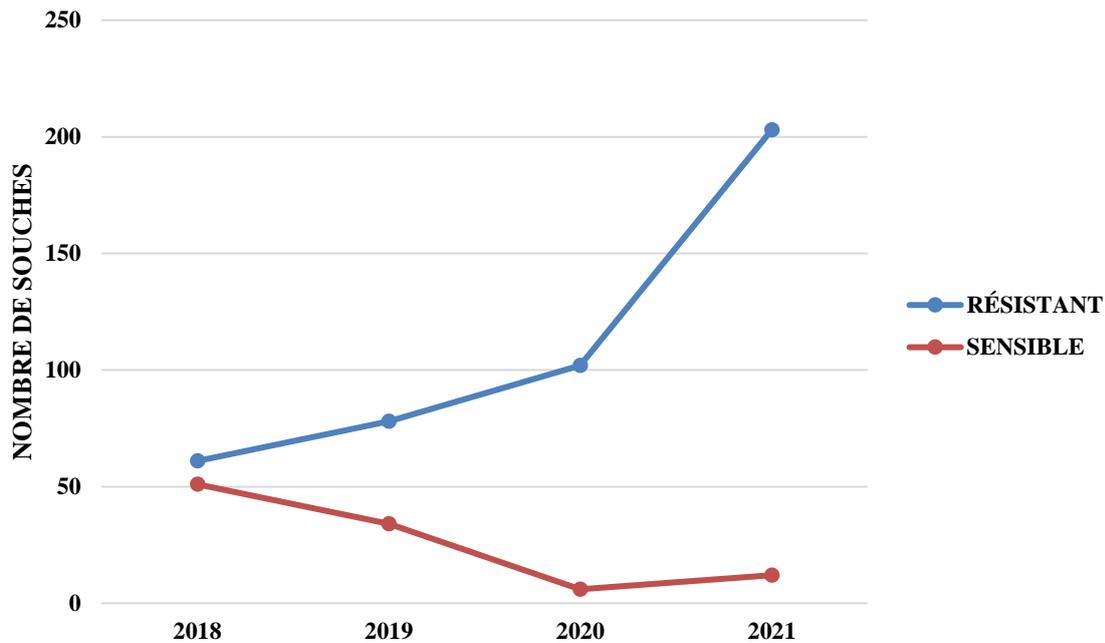


Figure 14 : Courbe d'évolution de la résistance d'Acinetobacter baumannii à l'Amikacine

2. Profil de résistance de Pseudomonas aeruginosa aux principaux antibiotiques :

Les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* (n=168) ont exprimé un taux de résistance de 05% pour la ceftazidime et de 10% à l'imipénème. Le taux de résistance le plus élevé était enregistré vis-à-vis de la ciprofloxacine (14%). Nos souches étaient plus sensibles à l'association Pipéracilline-Tazobactam, à la Ticarcilline et Pipéracilline (92% de souches sensibles). 9 souches étaient multirésistantes dans notre série, soit un taux de 5,3%.

**Tableau 5 : Évolution de la résistance aux antibiotiques de Pseudomonas
Aeruginosa durant la période d'étude.**

	2018	2019	2020	2021
TZP	22%	30%	25%	31%
CAZ	19%	20%	16%	22%
IMP	17%	12%	25%	23%
CIP	21%	14%	22%	25%
AK	7%	0%	0%	2%
CT	0%	0%	0%	0%

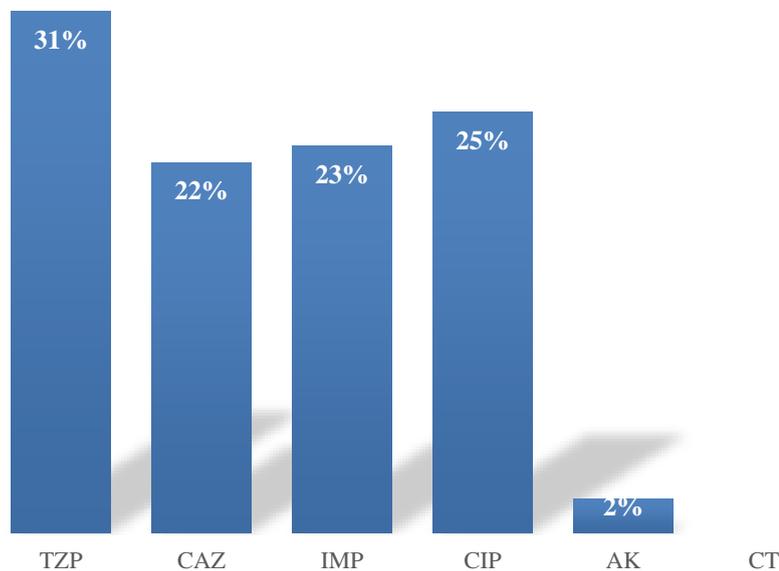


Figure 15 : Taux de résistance aux antibiotiques de Pseudomonas Aeruginosa en 2021

3. Profil de résistance des principales entérobactéries aux principaux antibiotiques :

Sur les 325 souches d'entérobactéries isolées, 288 étaient résistantes aux aminopenicillines soit 89%, 226 à l'amoxicilline acide clavulanique soit 70%, et 188 à la ceftriaxone soit 55%.

PROFIL MICROBIOLOGIQUE DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN RÉANIMATION ET ÉTAT DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Nos souches étaient sensibles à l'imipenème (97% de sensibilité), à l'amikacine (99% de sensibilité) et à la colistine (100%). (Tableau 4 ; 5 ; figure 11).

4. Klebsiella Pneumoniae :

Tableau 6 : Évolution de la résistance aux antibiotiques de Klebsiella Pneumoniae durant la période d'étude.

	2018	2019	2020	2021
AP	68%	94%	100%	100%
AMC	62%	72%	70%	72%
KF	65%	90%	70%	70%
CRO	59%	65%	67%	65%
IMP	0%	0%	5%	2%
ERT	0%	0%	5%	2%
CIP	47%	67%	40%	39%
AK	0%	0%	0%	2%
SXT	56%	72%	63%	54%
CT	0%	0%	0%	0%

5. Eschirichia Coli :

Tableau 7 : Évolution de la résistance aux antibiotiques d'Eschirichia Coli durant la période d'étude.

	2018	2019	2020	2021
AP	85%	78%	89%	100%
AMC	58%	46%	78%	90%
KF	62%	46%	77%	87%
CRO	58%	39%	67%	63%
IMP	0%	0%	0%	3%
ERT	0%	0%	0%	3%
CIP	46%	32%	56%	60%
AK	0%	0%	0%	0%
SXT	50%	39%	55%	60%
CT	0%	0%	0%	0%

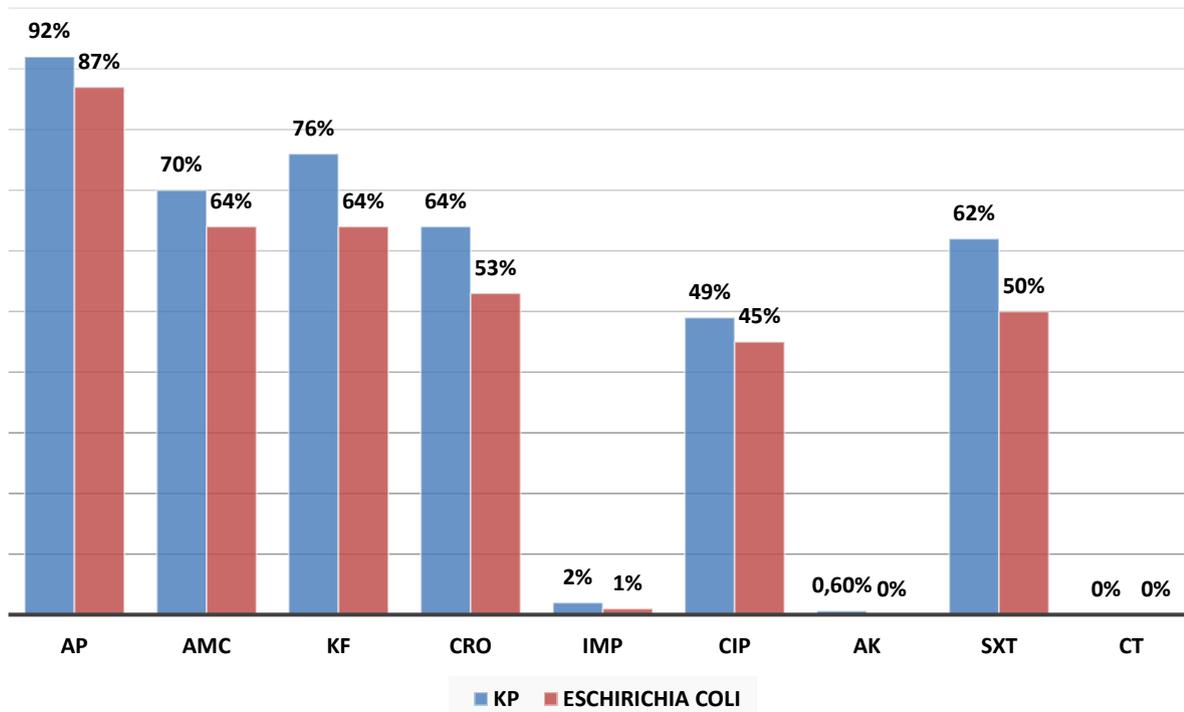


Figure 16 : Taux de résistance aux antibiotiques des principales enterobactéries.

6. Détection du caractère BLSE :

La production de BLSE par une souche bactérienne était confirmée par la recherche de résistance aux β -lactamines par une méthode qualitative : le test de synergie.

Dans les conditions standards de l'antibiogramme, un disque central d'amoxicilline + acide clavulanique et un disque périphérique de C3G (Ceftriaxone) placé à 3 cm du disque central étaient utilisés pour la détection qualitative de la production d'une bêta-lactamase à spectre étendu. La présence d'une synergie entre les deux disques, détectée par la présence d'une image caractéristique en « bouchon de champagne », confirme la présence d'une bêta-lactamase à spectre étendu.

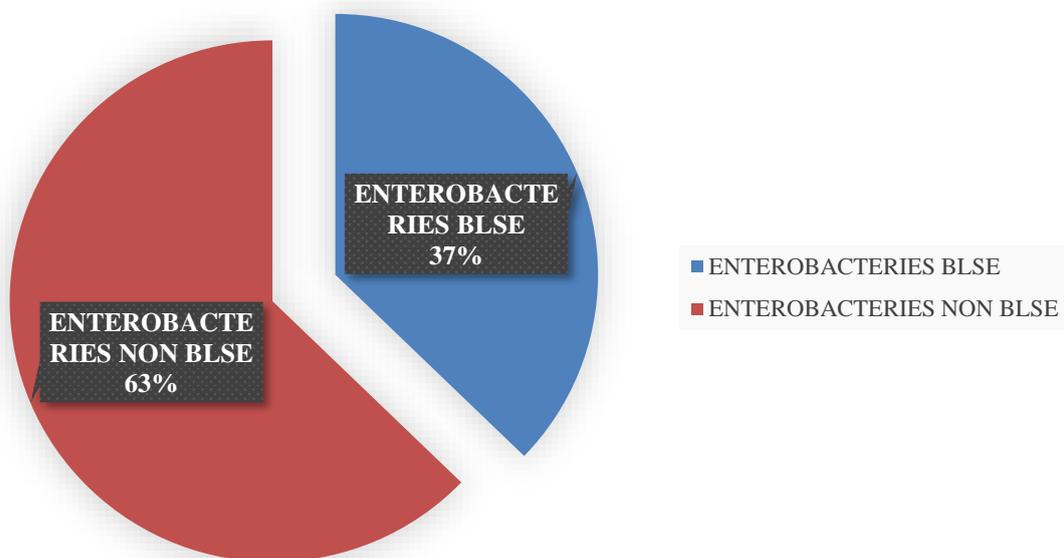


Figure 17 : Taux de production de BLSE chez les Enterobactéries

La répartition des entérobactéries productrices de BLSE selon les espèces bactériennes montre une prédominance de *Klebsiella pneumoniae*, représentant 66%, suivies d'*Escherichia coli* avec 26%, puis du genre *Enterobacter* qui représente 8% (Figure 13).

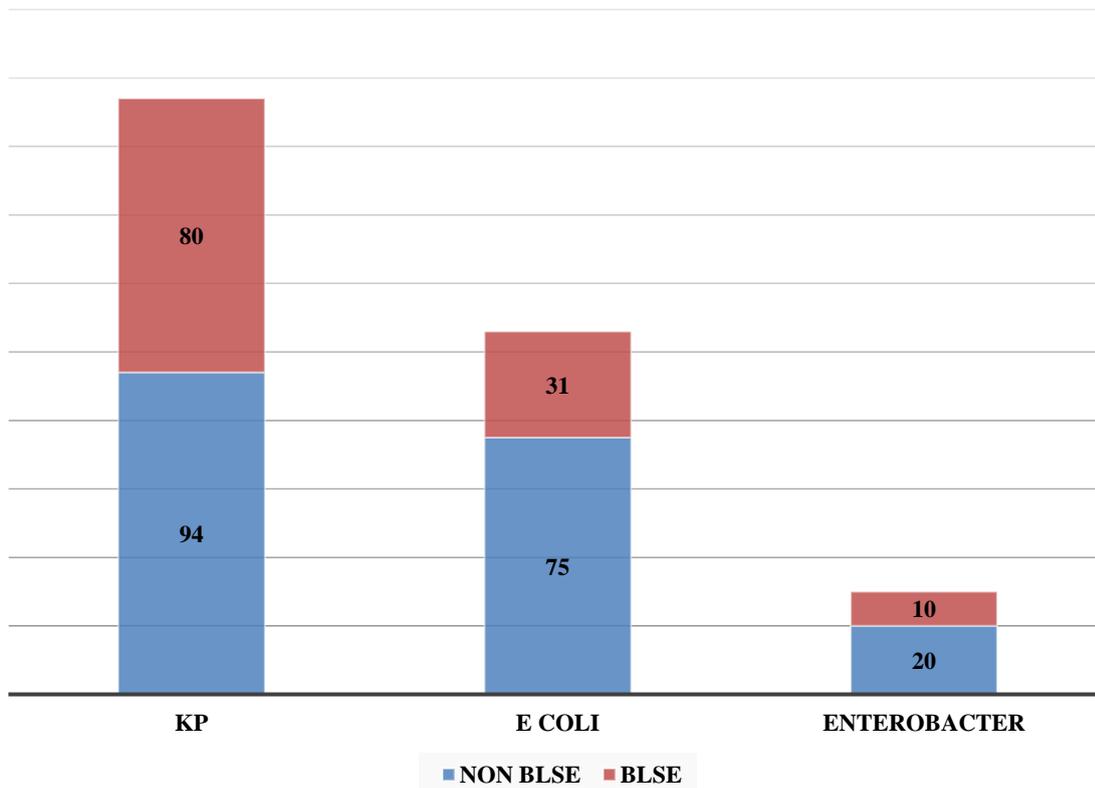


Figure 18 : Répartition des enterobactéries productrices de BLSE selon l'espèce bactérienne.

7. Détection de la carbapénémase chez les entérobactéries :

La production de carbapénémase par une souche bactérienne était suspectée devant une diminution de la sensibilité à l'Ertapénème (diamètre d'inhibition < 25 mm par test de diffusion sur milieu gélosé). Toute souche suspecte était soumise à un screening génotypique par test moléculaire rapide. Ainsi, 4 souches bactériennes productrices de carbapénémases ont été identifiées en 2020 et 2021. Elles produisaient des enzymes de type NDM dans 3 cas, et des enzymes de type OXA-48 dans 1 cas.

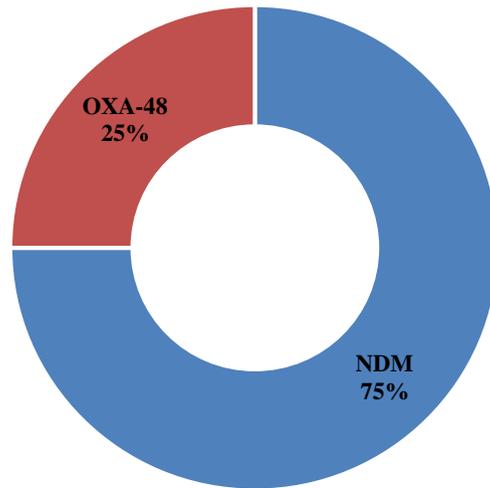


Figure 19 : Profil génotypique des souches productrices de carbapénémases.

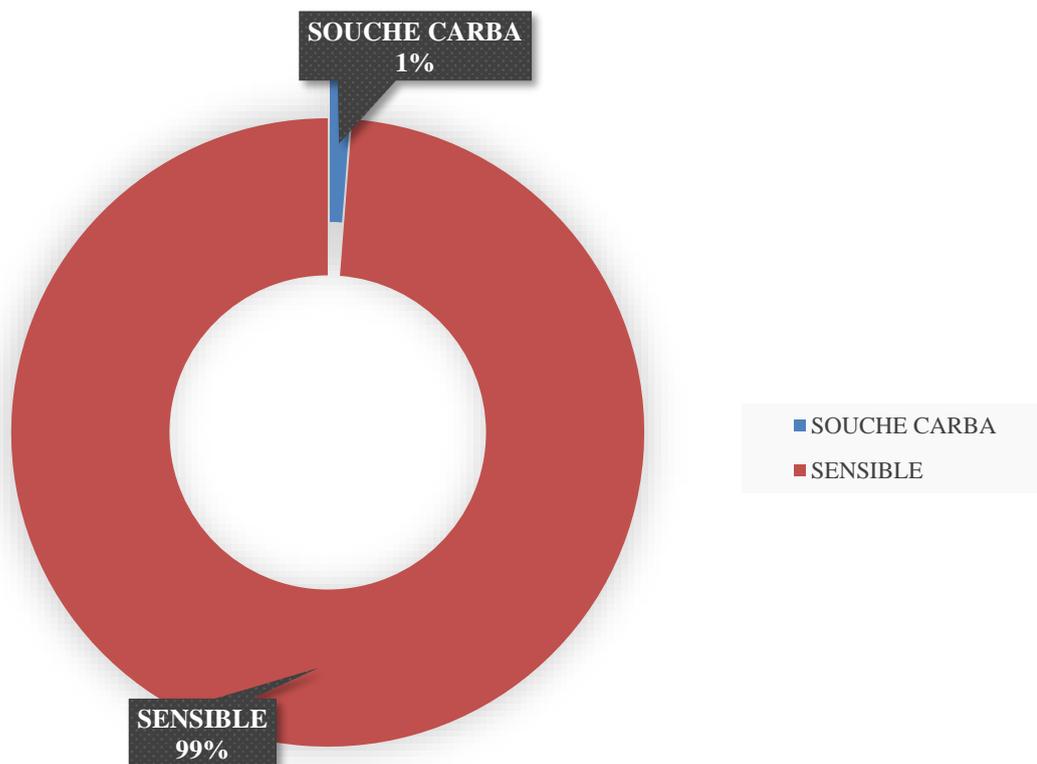


Figure 20 : Taux de production de carbapénémases chez les entérobactéries

8. Profil de résistance du Staphylocoque aureus aux principaux antibiotiques :

La résistance à la pénicilline par production de pénicillinase était recherchée par méthode de diffusion en milieu gélosé selon CA-SFM 2020 : visualisation du diamètre d'inhibition et de l'aspect de la bordure.

- ◆ Diamètre < 26 : R
- ◆ Diamètre > 26 et bordure nette : R
- ◆ Diamètre > 26 et bordure floue : S

Les souches productrices de pénicillinase étaient considérées résistantes à la pénicilline G, aux aminopénicillines, carboxypénicillines, et aux ureidopénicillines. Elles sont sensibles aux inhibiteurs de bêtalactamases aux pénicillines résistantes aux pénicillinases (oxacilline), aux céphalosporines, et aux carbapénèmes.

Dans notre série, 98% des staphylocoques aureus isolés étaient producteurs d'une pénicillinase (Figure 16).

La résistance aux autres bêta-lactamines était recherchée à l'aide d'un disque de Céfoxitine 30 ug dans les conditions standards de l'antibiogramme.

- ◆ Diamètre de FOX < 22 mm : R
- ◆ Diamètre de FOX > 22 mm : S

Les souches de staphylocoques résistantes à la Céfoxitine étaient interprétées résistantes à toutes les bêta-lactamines.

Dans notre série, 4% des staphylocoques aureus étaient résistants à la Céfoxitine (Figure 16).

PROFIL MICROBIOLOGIQUE DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN RÉANIMATION ET ÉTAT DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

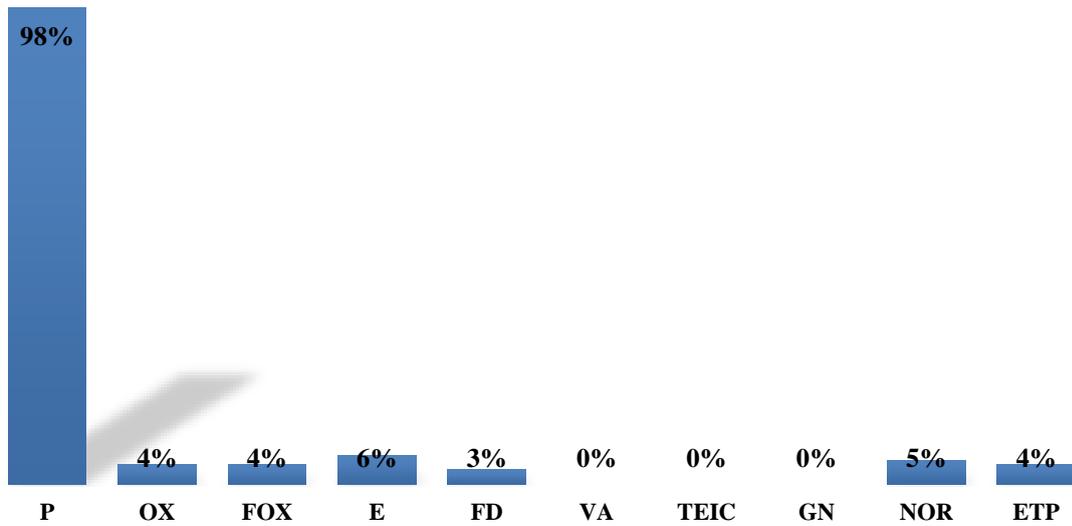


Figure 21 : Taux de résistance aux antibiotiques de Staphylocoque aureus.

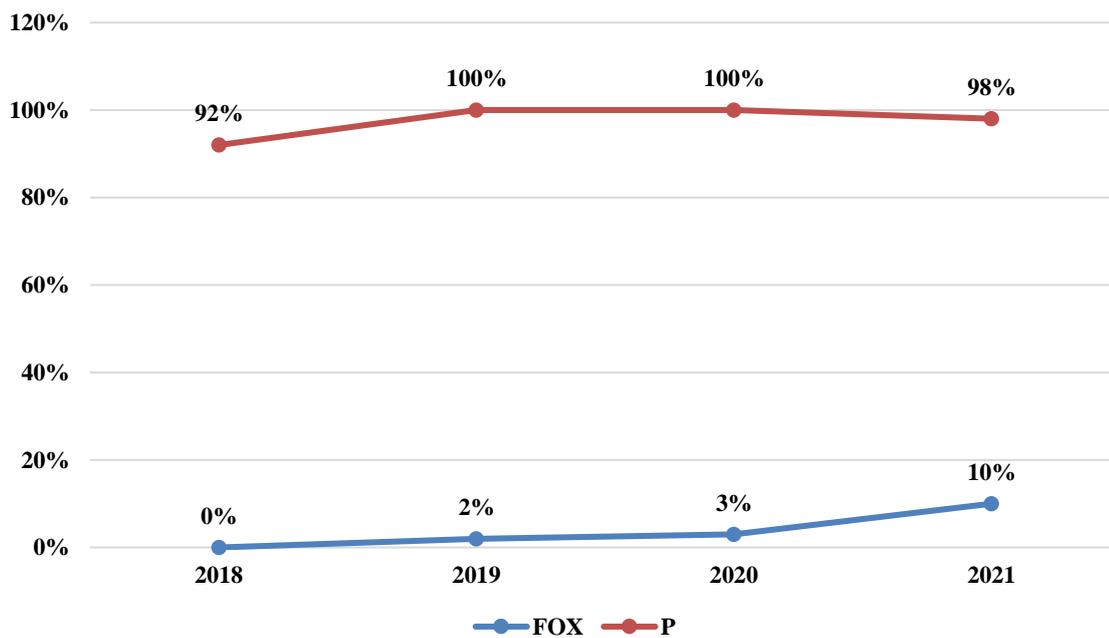


Figure 22 : Courbe d'évolution des résistances du Staphylococcus aureus aux bêtalactamines.

DISCUSSION

Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique représentent jusqu'à 25% des infections nosocomiales et plus de 50% de la prescription d'antibiotiques en réanimation [1]. Malgré la mise en œuvre de mesures préventives et les progrès de l'antibiothérapie, ce type d'infections représente l'une des principales causes de morbidité, de mortalité et d'augmentation du coût des soins en service de soins intensifs [2]. L'altération des mécanismes de défense muco-ciliaires, la présence de sondes endo-trachéales, la sédation prolongée, les aspirations trachéales répétées sont autant de facteurs de risques qui favorisent l'invasion microbienne des voies aériennes inférieures [3]. Si les pneumopathies nosocomiales recouvrent des contextes cliniques variés, les étiologies bactériennes le sont tout autant.

I. Répartition des principaux germes isolés.

Les bactéries responsables de la pneumopathie nosocomiale sont dominées par les BGN non fermentant (57% des bactéries isolées) et par les entérobactéries (26% des bactéries isolées). Les cocci gram positifs étaient moins fréquemment isolés et représentaient seulement 13% des bactéries isolées. Les BGN étaient principalement représentées par l'*Acinetobacter baumannii* (44%), suivi par *Klebsiella pneumoniae* (14%) et *Pseudomonas aeruginosa* (13%). Parmi les cocci gram positifs, le staphylocoque *aureus* reste le principal représentant. Ces données sont superposables à ceux retrouvés dans d'autres hôpitaux du royaume, et la prédominance d'*Acinetobacter baumannii* a également été signalée dans d'autres centres de soins nationaux à Rabat [4], Casablanca [5] et Marrakech [6], le tableau VII résume ces données.

Tableau 8 : Répartition des germes impliqués dans les pneumopathies dans les centres hospitaliers marocains.

	BGN			CCG+
	Acinetobacter baumannii	Pseudomonas aeruginosa	Enterobactéries	Staphylocoque aureus
RABAT CHU AVICENNE 2011 [4]	44%	26%	11%	8%
CASABLANCA IBN ROCHD 2015 [5]	33%	22%	30%	10%
MARRAKECH HMA 2019 [6]	42%	10%	18%	12%
FES CHU HASSAN II 2014 [7]	27%	14%	27%	24%
NOTRE SÉRIE	44%	13%	26%	12%

La figure 18 illustre l'évolution du profil microbiologique des pneumopathies nosocomiales au sein du CHU HASSAN II de Fès. Celle-ci met en évidence une augmentation inquiétante de la prévalence de l'Acinetobacter baumannii dans les échantillons respiratoires des malades intubés ventilés, passant de 27% des germes incriminés en 2014, à 44% en 2021. Ces statistiques font de l'Acinetobacter baumannii un sérieux problème épidémiologique et thérapeutique, justifiant l'instauration d'un système de surveillance de l'environnement microbien des établissements de santé et l'application strictes de mesures d'hygiène.

PROFIL MICROBIOLOGIQUE DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN RÉANIMATION ET ÉTAT DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

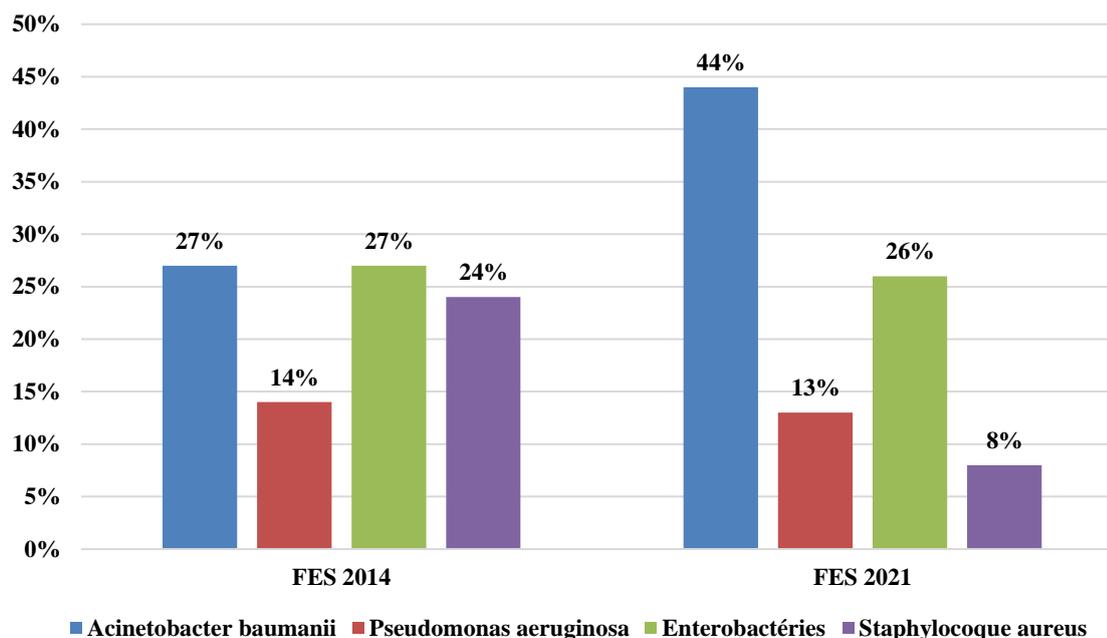


Figure 23 : Évolution du profil microbiologique des pneumopathies nosocomiales au sein du CHU HASSAN II de Fès

Ces données sont également confirmées par d'autres études étrangères, qu'elles soient réalisées en Europe ou aux états unis. Selon l'étude EPIIC II (European Prevalence of Infection in Intensive Care) qui inclut 1265 services de réanimation dans 75 pays différents, les BGN représentent 62,2% de l'ensemble des cas de PN inclus [8]. Restrepo et Peterson soulignent aussi cette prédominance des BGN lors d'une étude qui compare les germes des PN précoces et tardives chez les patients inscrits dans 2 larges essais cliniques aux États Unis [9].

II. Infection poly-microbienne :

Dans notre étude, la majorité des échantillons respiratoires étaient mono-microbiens, les cultures positives à caractère poly-microbien n'ont représenté que 19% des cas. Ces résultats rejoignent ceux de la faculté de médecine d'Oran, en Algérie (2017) [10], où le caractère mono-microbien est dominant dans 78% des échantillons positifs. Les autres études menées au Maroc mettent en évidence une prévalence du caractère poly-microbien plus élevé que dans notre série, sans différence d'épidémiologie ou d'évolution par rapport aux patients présentant une pneumopathie mono-microbienne [11]. Ces données sont résumées dans le tableau VI.

Tableau 9 : Prévalence des prélèvements polymicrobiens.

	Prévalence de l'infection respiratoire poly-microbienne
RABAT 2017 [12]	40%
ESPAGNE 2010 [13]	28%
ORAN 2017 [10]	22%
NOTRE ÉTUDE	19%

III. Profil de résistance aux antibiotiques :

1. Acinetobacter baumannii :

Les résultats en termes de résistance aux antibiotiques retrouvés dans notre étude sont alarmants. La résistance de l'*Acinetobacter baumannii* à la ceftazidime (100%), à l'amikacine (81%), et à l'imipénème (91%) a atteint un taux très élevé. Ils en font une bactérie pionnière dans la multirésistance. Ces résultats sont d'autant plus alarmants qu'ils sont nettement plus élevés que ceux publiés par l'ONEBRA en France en Mai 2020, qui rapporte des taux de résistance aux bêta-lactamines nettement plus faibles, variant entre 17 et 35% [14]. La résistance de l'*A. baumannii* aux bêtalactamines résulte de plusieurs mécanismes de résistance : hyperproduction de céphalosporinase

**PROFIL MICROBIOLOGIQUE DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN RÉANIMATION
ET ÉTAT DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES**

chromosomique, résistance enzymatique, mécanisme d'efflux ou encore imperméabilité [15]. La résistance à l'imipenème, quant-à elle, est liée principalement à la production d'oxacillinases, ayant une activité carbapénémase. [15]

Les résultats retrouvés dans les autres hôpitaux du royaume sont similaires, et sont résumés dans le tableau VIII. Ils font de l'Acinetobacter baumannii un problème sanitaire récurrent et dont la pharmaco-résistance est de plus en plus menaçante, car si la colistine reste active sur la quasi-totalité de ces souches, elle constitue fréquemment la dernière option thérapeutique disponible, au prix d'une néphrotoxicité, et fait craindre l'émergence d'isolats résistants à la colistine, et donc une évolution vers la pan-résistance dans un avenir proche.

Tableau 10 : Profil de résistance aux antibiotiques d'Acinetobacter Baumannii

	IMP	CAZ	AK	CIP	PIP	CT
MARRAKECH 2019 [06]	73%	70%	56%	93%	84%	-
RABAT 2020 [16]	96%	100%	92%	100%	100%	-
ORAN 2017 [10]	50%	100%	50%	50%	100%	-
NOTRE ÉTUDE	91%	100%	81%	100%	100%	-

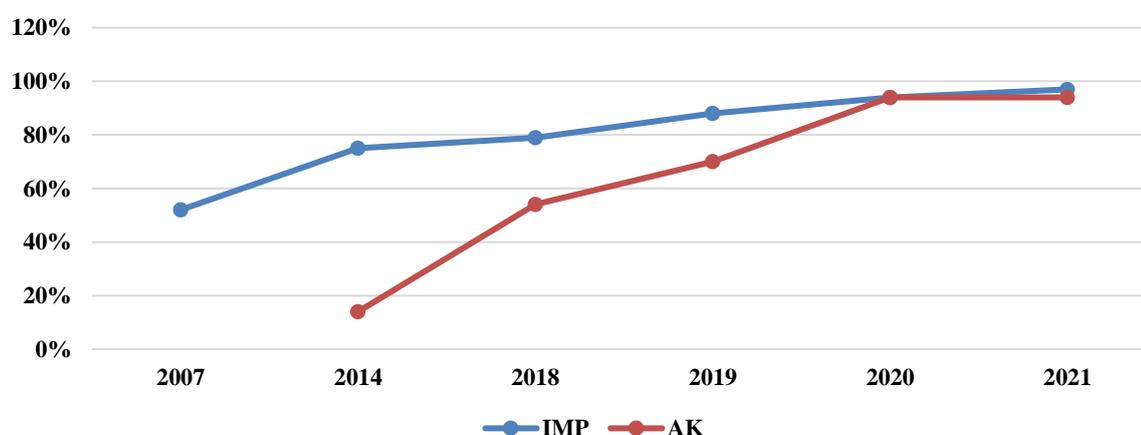


Figure 24 : Évolution du taux de résistance d'Acinetobacter baumannii à l'imipenème et à l'amikacine au CHU HASSAN II

2. Pseudomonas aeruginosa :

Pseudomonas aeruginosa occupe une position centrale dans la problématique actuelle des infections respiratoires nosocomiales. Ce bacille à Gram négatif ubiquitaire est responsable de 13% à 15 % de l'ensemble des infections respiratoires observées dans notre étude, une fréquence supérieure étant rapportée chez certaines catégories de patients à haut risque telles que les pathologies broncho-pulmonaires chroniques, immunodépression, et grands brûlés.

L'analyse du profil de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux différents antibiotiques testés (fig.10) montre des degrés de résistance relativement modérés vis-à-vis des bêta-lactamines testés : Ticarcilline + acide clavulanique (31%), pipéracilline+ tazobactam (31%), Céfotazidime (23%), Imipénème (22%).

Le développement de la résistance chez *Pseudomonas* est dû à la production d'une β - lactamase à large spectre, qui hydrolyse rapidement les aminopénicillines (amoxicillines et ampicilline), les céphalosporines de première et de deuxième génération, mais affecte peu lorsqu'elle est produite à un niveau basal, la ticarcilline (carboxypénicilline), la pipéracilline (ureidopénicilline), et certaines céphalosporines de troisième génération, telle que la Céfotazidime [17 ; 18].

Quant aux aminosides, souvent prescrits en association avec les bêta-lactamines dans le traitement des infections graves à *Pseudomonas*, on note que l'amikacine garde les taux de résistances les plus faibles du royaume, de l'ordre de 2%. Ainsi, en dépit de ses multiples mécanismes de résistance, en pratique hospitalière courante, l'association bêta-lactamine anti-*Pseudomonas* (Céfotazidime ou pipéracilline + tazobactam) et aminoside anti-pseudomonas (Amikacine) reste encore efficace sur plus de 80% des souches rencontrés dans nos unités de soins intensifs.

**PROFIL MICROBIOLOGIQUE DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN RÉANIMATION
ET ÉTAT DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES**

Concernant les quinolones, on note que le taux de résistance à la ciprofloxacine est de 25%, alors qu'il est de l'ordre de 25% en France [19] et de 54% en Tunisie [20].

Le tableau IX donne à titre comparatif les taux de résistances de *P.aeruginosa* aux différents antibiotiques dans des unités de soin intensifs du Maroc et d'Algérie.

Tableau 11 : Profil de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*

	IMP	CAZ	AK	CIP	PIP	CT
MARRAKECH 2019 [06]	30%	28%	17%	40%	45%	-
RABAT 2020 [16]	35%	39%	32%	35%	28%	-
ORAN 2017 [10]	57%	42%	0%	50%	42%	-
NOTRE ÉTUDE	22%	23%	2%	25%	31%	-

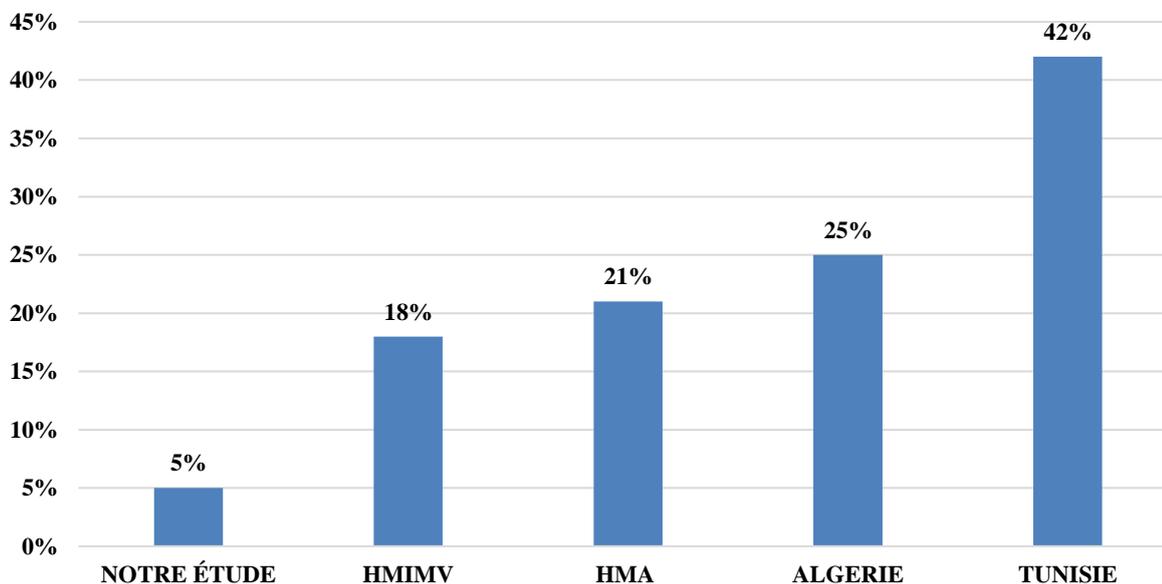


Figure 25 : Prévalence des *Pseudomonas aeruginosa* résistante à la Céfazidime dans certaines structures hospitalières

3. Entérobactéries :

Dans notre étude, les Entérobactéries forment 26% de l'ensemble des bactéries isolées et correspondent donc à la 2eme cause des infections respiratoires en réanimation, après les BGN non fermentants. Elles sont représentées essentiellement par *Klebsiella pneumoniae* (54%), *Escherichia Coli* (33%), *Enterobacter cloacae* (7%) et par *Proteus mirabilis* (2%) alors que le pourcentage n'excède pas 1% pour chacune des espèces restantes.

L'analyse du profil de résistance des entérobactéries vis-à-vis des antibiotiques testés (fig.11) montre que :

- ◆ La résistance aux aminopénicillines en présence d'acide clavulanique est de 70 % pour *Escherichia coli* et de 64 % pour *Klebsiella pneumoniae* (résistance naturelle par production d'une pénicillinase de bas niveau).
- ◆ Un taux de résistance de 50% pour les C3G (Céftriaxone). Cette résistance est essentiellement due à la production d'enzymes dégradant certaines bêta-lactamines (les céphalosporinases de haut niveau et les bêta-lactamases à spectre élargi). [21]

Production de BLSE : Les bactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération par production de BLSE, constituent une préoccupation majeure en milieu hospitalier en raison de leur diffusion épidémique et de leur multi-résistance aux antibiotiques. Les BLSE sont retrouvées chez une vaste proportion de bacilles à gram négatif, mais les entérobactéries représentent les germes les plus incriminés [21]. Selon notre étude, les entérobactéries productrices de BLSE représentent 10% de l'ensemble total des bactéries identifiées, et correspondent à 37% des entérobactéries isolées (fig.12). Si ces chiffres restent équivalents à ceux rapportés par d'autres études marocaines réalisées à Rabat ou Marrakech, ils restent néanmoins bien plus élevés que

ceux publiés par le réseau européen de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques www.santepubliquefrance.fr en 2020 [22]. Ces résultats incitent à renforcer la vigilance et les mesures de prévention de la transmission croisée dans les établissements de santé pour réduire la fréquence des infections à Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^e génération.

Tableau 12 : taux de BLSE en réanimation

	TAUX de BLSE en réanimation
MARRAKECH 2019 [10]	13%
ALGÉRIE 2017 [10]	20%
RABAT 2012 [10]	29%
NOTRE ÉTUDE	10%

Production de carbapénémase : Pendant longtemps, la résistance des entérobactéries aux carbapénèmes est restée marginale avec des taux de sensibilité de 99 à 100% [23], faisant de cette famille d'antibiotiques le traitement de choix contre les entérobactéries productrices de BLSE [24]. Malheureusement, l'utilisation abusive de ces molécules a entraîné l'émergence de résistances à ces antibiotiques, notamment chez *Klebsiella pneumoniae* [25]. Dans notre étude, le taux de résistance à l'Imipénème chez les entérobactéries est de 3% seulement. Il était de 6% à Rabat en 2013, et 5% à Marrakech en 2015. *Klebsiella pneumoniae* vient en tête avec une prévalence de 75%, suivi par *Escherichia coli* (25%). Des données similaires sont retrouvées au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Ibn Sina de Rabat et au laboratoire de microbiologie de l'hôpital HIT à Marrakech. Ainsi, les carbapénèmes demeurent les molécules de choix dans le traitement d'une infection à BLSE en association avec l'Amikacine. Cependant, si au Maroc les oxacillinases à activité carbapénémase semblent être les enzymes les plus fréquemment rencontrées, notre série a mis en évidence 3 cas de Métallo-B-

lactamase (NDM-1), contre un seul cas d'oxacillinase (oxa-48). Ces souches NDM-1 étaient résistantes aux carbapénèmes et à tous les antibiotiques testés sauf à la colistine. Ces données montrent à quel point il est essentiel d'insister sur l'usage rationnel des carbapénèmes et sur l'importance de la désescalade thérapeutique lorsqu'elle est possible.

4. Staphylocoque aureus :

S. aureus occupe une place importante dans les pneumopathies nosocomiales en l'occurrence sur le plan fréquence et surtout de gravité, et à cela peut s'ajouter des difficultés de prise en charge thérapeutique du fait essentiellement de ses résistances aux antibiotiques. Dans notre étude, 155 isolats (12%) provenant des échantillons respiratoires positifs correspondent à un staphylocoque aureus. Le profil de résistance vis-à-vis des antibiotiques testés fait l'objet de la figure 16.

Pénicillinase : Ces données montrent que 98% des souches de staphylocoque aureus isolés sont résistantes à la pénicilline G. L'hôpital Cheikh Zaid [26] et l'hôpital d'instruction Mohamed V [26] retrouvent des taux similaires, variant entre 87 et 91%. Le support de cette résistance correspond à une pénicillinase codée par un transposon plasmidique qui peut porter des gènes de résistance à d'autres antibiotiques (aminosides, macrolides). [27 ; 28]

SARM : Le développement des pénicillines antistaphylococciques de la famille de la méticilline ont ensuite rapidement été suivi par l'émergence de staphylocoque aureus résistant à la méticilline (SARM). Dans notre série, la résistance à la méticilline chez *S. aureus* « SARM » est de l'ordre de 4%. Ce taux est largement inférieur aux chiffres publiés par les autres hôpitaux marocains, qui affichent des chiffres variant entre 14 et 19%. Cette résistance à la méticilline, conduit à une résistance à toutes les bêtalactamines [29]. Elle est déterminée par la présence d'un gène chromosomique

(mecA) qui code pour une PLP supplémentaire, la PLP 2a [29]. Cette PLP additionnelle à moins d'affinité pour les bêtalactamines [29]. L'alternative thérapeutique pour ces souches résistantes reste l'utilisation des glycopeptides, qui voient leur utilisation augmenter considérablement parallèlement à l'émergence toujours croissante des SARM [30].

GISA : La pression exercée sur les glycopeptides a conduit à l'apparition d'un phénomène actuellement en observation : l'apparition de souches de staphylocoques aureus de sensibilité diminuée aux glycopeptides [31]. Ces souches présentent une sensibilité diminuée plus qu'une véritable résistance, et affichent des CMI qui varient entre 8 et 16 mg/l [32]. Cette résistance peut s'exprimer soit sur la Teicoplanine seule (TISA), soit sur la Vancomycine seule (VISA), ou sur les deux (GISA) [33 ; 34]. Des difficultés techniques associées à une absence de politique de dépistage, peuvent être à l'origine de l'absence de valeurs fiables pour établir la prévalence de ce phénomène. A l'heure actuelle aucune de ces souches GISA ou Hétéro-GISA n'ont été isolées dans nos centres de soins marocains, mais des études européennes affichent des chiffres variant entre 2 et 7% des souches de SARM, alors qu'au Japon, Hiramatsu rapporte une fréquence de 20%.

CONCLUSION

Les pneumopathies nosocomiales constituent un problème majeur de santé publique. Ils sont la deuxième cause d'infections nosocomiales dans les hôpitaux, et la première dans les unités de soins intensifs, devant les infections urinaires et les infections du site opératoire. En dépit des nombreux progrès qui ont été effectués aussi bien en matière de diagnostic que de traitement, le pronostic des pneumonies nosocomiales reste sombre, essentiellement du fait de la gravité de la maladie sous-jacente. Cette complication représente en effet la première cause de décès lié à l'infection nosocomiale et est à l'origine d'une prolongation de la durée du séjour hospitalier et d'un surcoût important.

Notre travail a été réalisé sur 1115 échantillons respiratoires positifs provenant de patients hospitalisés dans les services d'unité de soins intensifs de l'hôpital Hassan II de Fez entre janvier 2018 et décembre 2021. Il a permis de réaliser une étude de l'écologie bactérienne de nos services, ainsi que l'analyse des profils de résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans nos structures.

La lecture et l'interprétation de l'antibiogramme des espèces bactériennes les plus représentées montre que les entérobactéries ont représenté 26% des bactéries isolées et ont montré des taux de résistance aux aminopenicillines en présence d'acide clavulanique de 70%, alors que le taux de résistance aux C3G, par production de BLSE ou cephalosporinase chromosomique est de 55%. Avec un taux de sensibilité supérieur à 99% à l'imipénème, les carbapénèmes restent les molécules de choix dans le traitement d'une infection à BLSE, en association avec l'amikacine.

L'*Acinetobacter baumannii* a représenté 44% des prélèvements bactériologiques positifs. Il a montré des taux de résistance très élevés pour la ceftazidime (100%), l'amikacine (81%) et pour l'imipénème (91%). Ces résultats font de l'*Acinetobacter*

baumanii un problème sanitaire récurrent et dont la pharmaco-résistance est de plus en plus menaçante, car si la colistine reste active sur la quasi-totalité de ces souches, elle constitue actuellement la dernière option thérapeutique disponible.

L'analyse du profil de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux différents antibiotiques testés a montré des degrés de résistance relativement faibles vis-à-vis des bêta-lactamines testés : Ticarcilline + acide clavulanique (8%), pipéracilline+ tazobactam (8%), Céfotaxime (5%), Imipénème (10%). Ainsi, en dépit de ses multiples mécanismes de résistance, en pratique hospitalière courante, l'association bêta-lactamine anti-*Pseudomonas* et aminoside anti-*pseudomonas* (Amikacine) reste encore efficace sur plus de 90% des souches rencontrés dans nos unités de soins intensifs.

Les résultats de ce travail permettront donc d'améliorer les connaissances sur l'écologie bactérienne et sur l'activité des antibiotiques vis-à-vis des différents agents pathogènes aux services de réanimation de l'Hôpital Hassan II de Fez.

En raison de l'état de santé et des défenses altérées des patients en réanimation nous insistons sur le respect rigoureux des règles d'hygiène et des mains en particulier ainsi que sur la sensibilisation du personnel à la part que l'environnement de soins peut tenir dans la chaîne de transmission de ces microorganismes.

Enfin nous concluons qu'une lutte efficace contre ces infections nécessite une stratégie globale de prévention qui suppose une étroite collaboration entre épidémiologistes, cliniciens, bactériologistes, hygiénistes et l'équipe soignante.

RÉSUMÉ

La prise en charge de la pneumopathie nosocomiale constitue un véritable défi diagnostique et thérapeutique et repose en grande partie sur l'antibiothérapie probabiliste à large spectre, avec désescalade thérapeutique suivant les résultats de l'antibiogramme. La surveillance épidémiologique régulière permet de guider cette prise en charge et de définir une stratégie de prévention adéquate et adaptée au contexte.

L'objectif principal de notre étude était d'identifier les bactéries incriminées dans les pneumopathies nosocomiales (PC) au sein des services de réanimation du CHU Hassan II de Fès, en vue de guider cette antibiothérapie probabiliste. Il s'agit d'une étude microbiologique rétrospective et descriptive des échantillons respiratoires provenant des différents services de réanimation du CHU HASSAN II de Fès, étalée sur une période de 4 ans, entre janvier 2018 et décembre 2021. Seules les infections pulmonaires survenant au-delà de 48 heures de l'admission du patient au service de réanimation ont été incluses. Les BGN non fermentaires étaient retrouvées dans 57% des cas, les entérobactéries dans 26% des cas et le Staphylocoque auréus dans 13% des cas. L'étude de la résistance aux antibiotiques montre une pan-résistance aux antibiotiques pour l'*Acinetobacter baumannii* ; un taux de résistance aux C3G de 55% pour les entérobactéries, un taux de résistance à la Ceftazidime de 23% pour le *Pseudomonas aeruginosa* et un taux de résistance aux bêta-lactamines de 5% pour le Staphylocoque aureus.

Les résultats de ce travail permettent donc d'améliorer les connaissances sur l'écologie bactérienne et sur l'activité des antibiotiques vis-à-vis des différents agents pathogènes dans les services de réanimation de l'Hôpital Hassan II de Fez.

ABSTRACT

The management of nosocomial pneumopathy is a real diagnostic and therapeutic challenge and is largely based on broad-spectrum probabilistic antibiotic therapy, with therapeutic de-escalation according to the results of the antibiogram. Regular epidemiological surveillance helps to guide this management and to define an adequate prevention strategy adapted to the context.

The main objective of our study was to identify the bacteria involved in nosocomial pneumonia (NDP) in the intensive care unit of the Hassan II University Hospital in Fez, in order to guide this probabilistic antibiotic therapy. This is a retrospective and descriptive microbiological study of respiratory samples from the different intensive care units of the Hassan II University Hospital of Fez, spread over a period of 4 years, between January 2018 and December 2021. Only pulmonary infections occurring beyond 48 hours of the patient's admission to the intensive care unit were included. Non-fermentative BGN were found in 57% of cases, enterobacteria in 26% of cases and *Staphylococcus aureus* in 13% of cases. The study of antibiotic resistance shows a pan-antibiotic resistance for *Acinetobacter baumannii*; a C3G resistance rate of 55% for Enterobacteriaceae, a Ceftazidime resistance rate of 23% for *Pseudomonas aeruginosa* and a beta-lactam resistance rate of 5% for *Staphylococcus aureus*.

The results of this work allow to improve the knowledge on the bacterial ecology and on the activity of antibiotics against different pathogens in the intensive care units of the Hassan II Hospital of Fez.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Yu, V. and N. Singh, *Excessive antimicrobial usages measurable ham to patients with suspected ventilator-associated pneumonia*. Intensive Care Med. 2004May, 2004. 30(5): p. 725–8.
- [2] Society, A.T., *Hospital-acquired pneumonia in adults: diagnosis, assessment of severity, initial antimicrobial therapy, and preventive strategies*. Am J Respir Crit Care Med., 1996. 153: p. 1711–25.
- [3] Maoulainine, F.-M.-R., et al., *Épidémiologie de l'infection nosocomiale bactérienne dans un service de réanimation néonatale marocain*. Archives de Pédiatrie, 2014. 21(9): p. 938–943.
- [4] Le profil de sensibilité des principales bactéries isolées des prélèvements pulmonaires essentiellement les prélèvements distaux protégés à l'exception des mycobactéries, Université Mohamed V Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat (2011)
- [5] Ezzouine, N. Harbouze, A. Benslama. Service de réanimation médicale–CHU Ibn Rochd–Casablanca–Maroc, Casablanca, Maroc 2015.
- [6] Les pneumopathies nosocomiales chez les patients hospitalisés en réanimation (à propos de 64 cas), université Cadi Ayyad, faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech.
- [7] Ventilator-associated pneumonia : microbiological characteristics in the university hospital HASSAN II of fez, morocco, 2014. Ghita Yahyaoui, Zineb Taki, Mustapha Mahmoud.
- [8] WOLF M., NICOLAS M.H. Les renseignements de l'étude EPIIC. lettre infectiol. 2015,Hors série septembre:15–20.
- [9] Restrepo MI, Peterson J, Fernandez JF, Qin Z, Fisher AC, Nicholson SC. Comparison of the bacterial etiology of early-onset and late-onset ventilator-associated pneumonia

PROFIL MICROBIOLOGIQUE DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN RÉANIMATION
ET ÉTAT DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

- in subjects enrolled in 2 large clinical studies. Respiratory care. 2013;58(7):1220–5.
- [10] Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique : bactériologie et biofilm, 2017. Université d'Oran, faculté de médecine, département de pharmacie, Lahcen Benmahdi.
- [11] Les pneumopathies nosocomiales en réanimation de CHU Hassan II de Fès Abdelkarim Shimi, Soumaya Touzani, Nabil Elbakouri, Brahim Bechri, Ali Derkaoui, Mohammed Khatouf, 2015 Service de réanimation polyvalente A1, CHU Hassan II, faculté de médecine et de pharmacie, université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fez, maroc.
- [12] PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN REANIMATION A L'hôpital militaire d'instruction mohammed V de RABAT (hmimv) incidence, epidemiologie et impact sur la morbite et mortalite, 2020. SALEY YOUNOUSSA, FATAOU
- [13] Díaz, E., et al., *Puesta al día en medicina intensiva: el enfermo crítico con infección grave neumonia asociada a la ventilación mecánica*. Recuperado el mayo de, 2011.
- [14] Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Rapport d'activité annuel édition mai 2020.
- [15] “Lahsoun M., Boutayeb H., Zerouali K., Belabbes H et El Mdaghri N. Prevalence and in vitro antimicrobial susceptibility patterns of Acinetobacter baumannii strains in a Moroccan university hospital. Médecine Mal Infect. 2007;37[12]:828–31.”
- [16] PNEUMONIE BACTERIENNE ASSOCIEE A LA VENTILATION MECANIQUE. Université Mohamed V de Rabat. 2020. Widad elHadi.
- [17] “Lahsoun M., Boutayeb H., Zerouali K., Belabbes H et El Mdaghri N. Prevalence and in vitro antimicrobial susceptibility patterns of Acinetobacter baumannii strains in a Moroccan university hospital. Médecine Mal Infect. 2007;37[12]:828–31.”
-

- [18] Minchella A, Molinari L, Alonso S, Bouziges N, Sotto A, Lavigne J-P. Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. *Pathologie Biologie*. 2010;58(1):1-6.
- [19] “Walkty A., DeCorby M., Nichol , Mulvey M R., Hoban D. and Zhanel G. Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from patients in Canadian intensive care units as part of the Canadian National Intensive Care Unit study *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008 Jun;61(2):217-21. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18304774>
- [20] Foulal L. Profil épidémiologique des Entérobactéries Sécrétrices de Bêta Lactamases à Spectre élargi diagnostiquées au Sein du Laboratoire de Microbiologie du ChU de Rabat. Thèse Doctorat en pharmacie, Université Mohammed V- Souissi; 2013.”
- [21] “Jarlier V. Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France. Réseau BMR-Raisin. Résultats 2014. Saint-Maurice : Santé publique France.
- [22] Santé publique France, rapport annuel 2020.
- [23] “Gülmez D., Woodford N., Palepou M-FI, Mushtaq S., Metan G., Yakupogullari Y., et al. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int J Antimicrob Agents*. 2008 Jun;31(6):523-6.”
- [24] Chevet K., Guyot K., Mellon G., Vidal B., Couzigou C., Misset B., et al. Phenotypic detection of carbapenemase associated with extended-spectrum beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae*. *Médecine Mal. Infect*. 2012;42(1):33-5.
- [25] “Anago E., Ayi-Fanou L., Akpovi CD, Hounkpe WB, Agassounon-Djikpo Tchibozo M., Bankole HS, et al. Antibiotic resistance and genotype of beta-lactamase producing *Escherichia coli* in nosocomial infections in Cotonou, Benin. *Ann. Clin. Microbiol Antimicrob*. 2015 Jan 17;14:5.
-

- [26] Zygmunt DJ, Stratton CW and Kernodle DS. Characterization of four β -lactamase produced by *S.aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:440-5."
- [27] Pinho MG, Filipe SR, Lencastre H. and Tomasz A. Complementation of the essential peptidoglycan transpeptidase function of penicillin-binding protein-2 (PBP2) by the drug resistance protein PBP2A in *S.aureus*. *J Bacteriol* 2001;183:6525-31.
- [28] LAKHDAR K
.Les infections nosocomiales à *pseudomonas aeruginosa* au service de réanimation A1. Thèse Doctorat en Médecine, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Faculte de médecine et de pharmacie de Fès.2017.
- [29] AJDAKAR S.
Les entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE): Profil épidémiologique actuel et conséquences thérapeutiques. Thèse Doctorat en Médecine, Université Cadi Ayyad n°92- 2015.
- [30] Livermore DM. Antibiotic resistance in staphylococci. *Intern J Anti- microb Agents* 2000;16:S3-S10.
- [31] Srinivasan A, Dick JD, Perl TM. Vancomycin resistance in *Staphylo- cocci*. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:430-8.
- [32] Fridkin SK. Vancomycin-intermediate and resistant *Staphylococcus aureus*: what the infectious disease specialist needs to know. *Clin Infect Dis* 2001;32:108-15.
- [33] Center for Disease Control and prevention. Interim guidelines for prevention and control of staphylococcal infections associated with reduced susceptibility to vancomycin. *Morbidity and Mortality weekly reports* 1997:626-38 US.

- [34] Van Griethuysen A, Van't Veen A, Buiting A, Walsh T, Kluytmans J. High percentage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with reduced susceptibility to glycopeptides in the Netherlands. *J Clin Microb* 2003;41:2487-91.
- [35] Société française de microbiologie EUCAST CA-SFM V 1.1 Avril 2020.
- [36] Reed W.W., Byrd G.S., Gates R.H., Jr. Sputum gram's stain in community-acquired pneumococcal pneumonia. A meta-analysis. *West J Med*. 1996;165:197-204.
- [37] Leroy O. Apport des explorations microbiologiques au diagnostic des infections des voies respiratoires basses. *Med Mal Infect*. 2006;36:570-598.
- [38] Musher D.M., Thorner A.R. Community-acquired pneumonia. *N Engl J Med*. 2014;371:1619-1628.
- [39] Girault C., Saigne L., Jusserand D. Évaluation technique du prélèvement bronchique distal protégé à l'aveugle par cathéter en réanimation. *Reanim Urg*. 1997;6:667-674.
- [40] Casetta M., Blot F., Antoun S. Diagnosis of nosocomial pneumonia in cancer patients undergoing mechanical ventilation: a prospective comparison of the plugged telescoping catheter with the protected specimen brush. *Chest*. 1999;115:1641-1645.
- [41] Pham L.H., Brun-Buisson C., Legrand P. Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. Comparison of a plugged telescoping catheter with the protected specimen brush. *Am Rev Respir Dis*. 1991;143:1055-1061.
- [42] Grossman R.F., Fein A. Evidence-based assessment of diagnostic tests for ventilator-associated pneumonia. Executive summary. *Chest*. 2000;117:177S-181S.