

UN AN DE PRODUCTION SCIENTIFIQUE



Inaugurée en 2019, la *Revue Aurassienne du Laboratoire* poursuit une route pas encore longue mais bien variée et riche, c'est une Revue scientifique trimestrielle éditée par une équipe jeune chapotée par un Leader dans la matière, ceux-ci essaient de lui apporter sang neuf et innovation avec chaque numéro, sans discontinuer la maîtrise, elle en est aujourd'hui à son 5^{ème} numéro.

1 an et 5 numéros plus tard, notre nouveau-né se porte bien et grandit vite malgré les circonstances exceptionnelles et la situation pandémique COVID-19 en cours cette année.

Quelques Mois auparavant, notre revue n'était qu'un projet qu'on discutait entre nous, et comme l'a déjà mentionné l'initiateur et le Directeur de la publication Professeur Ahmed KASSAH-LAOUAR, l'aspect qui nous inquiétait était bel et bien la pérennité, mais nous voilà, avec des petits pas mais surs, arrivons à clôturer notre premier volume.

Le cœur de la revue est constitué, nos lecteurs le savent, d'articles scientifiques divers. Nous en avons publié, en moyenne, 17 articles par numéro. Cela correspondait à notre capacité éditoriale plus qu'à la demande des candidats à la publication. Nous avons veillé à maintenir un dialogue profitable entre les auteurs et la revue, sous le contrôle du comité de rédaction et des référées, ce qui a pu contribuer à allonger les délais de parution

des travaux sélectionnés mais qui a aussi permis de garantir leur qualité scientifique.

Les modalités d'arrivée des propositions d'articles sont diverses.

Traditionnellement, une bonne proportion provient de propositions spontanées ; une autre relève d'une pratique habituelle : des rubriques stables et qui reviennent dans chaque numéro avec un contenu différent.

Différents thèmes et domaines de biologie médicale, vue sa vocation, ont été traités avec des degrés différents, mais ça n'a pas empêché que notre revue ouvre ses pages pour toutes les disciplines médicales, médicales, chirurgicales et pharmaceutiques ; ce qui a fait d'elle une revue d'experts assoiffés à la publication.

Chaque numéro comprenait une partie dédiée à un événement spécial qui s'est déroulé durant cette période. Et la COVID-19 qui a touché le monde durant cette année 2020 a eu sa grande part dans notre revue et on lui a consacré un numéro spécial la traitant de tous ses cotés cliniques, biologiques, diagnostic et thérapeutique.

Aujourd'hui, notre revue fête son premier anniversaire, et va éteindre sa première bougie et ça ne sera surement pas la dernière, certes c'est un petit parcours, mais nous en sommes si fières et satisfaits parce qu'on le fait avec cœur et ardeur.

Dr Khebri Mouna Khadidja
Rédactrice en Chef



L'invité du numéro

Docteur Azzedine Hamlat
Directeur du Centre de Lutte Contre le Cancer-Batna

Docteur, que pensez-vous de la pandémie actuelle que traverse la planète ?

La réalité de la chose c'est que cette pandémie Covid-19 que traverse le monde a créé une crise sanitaire majeure, c'est une maladie infectieuse émergente apparue en Chine en 2019, puis elle s'est étendue à toute la planète bouleversant toute l'économie mondiale, créant ainsi une psychose par son mode de transmission perplexe qui nécessite des moyens énormes de protection ainsi que par les multiples mutations de son agent pathogène.

Docteur, quels sont les moyens efficaces pour lutter contre le SARS-COV-2 et la COVID-19 ?

La seule alternative efficace pour arriver à bout de l'éradication de ce virus virulent et très contagieux est la vaccination en complément aux mesures barrières préventives qui doivent rester de rigueur dans la vie tous les jours.

Actuellement, vu les chiffres alarmants en matière de morbidité, de mortalité et de surcoût économique, le monde entier est mobilisé (experts, chercheurs, laboratoire, etc...) afin de trouver le vaccin le plus efficace dans un temps record, à l'heure actuelle plusieurs vaccins sont mis en œuvre pour stopper cette pandémie : des vaccins à ARN messager, des vaccins à virus inactif, des vaccins vecteur viral, etc.

Que pensez-vous Docteur de notre Revue Aurassienne du Laboratoire (RAL) éditée par le LCBM ?

Je pense que c'est une revue intéressante par le contenu diversifié et les sujets présentés et surtout sa périodicité, la RAL est riche en informations biomédicales. Pour moi cette revue nationale, qui un jour deviendra internationale du fait des sujets scientifiques traités.

Je pense qu'actuellement, c'est la seule revue qui traite de la biologie à travers le territoire. Je tiens à encourager le staff multidisciplinaire de cette revue, très dynamique dirigé par l'éminent Professeur Ahmed Kassah Laouar, chef de service du LCBM-CLCC-Batna et ses honorables comités scientifique et de rédaction qui ont joué un grand rôle quant à la réussite de cette revue.

Un mot de la fin Monsieur le Directeur,

Pour être beaucoup plus objectif sur la question du centre de diagnostic virologique SARS-COV-2, COVID-19.

Qui a suscité beaucoup de débat, la DSP en collaboration avec la direction du CLCC et le LCBM ont créé l'unité « COVID-19 » dirigée par le Professeur Ahmed Kassah Laouar et homologuée par l'IPA afin de prendre en charge les PCR COVID-19 de la wilaya de Batna et des autres wilayas limitrophes.

Il faut savoir que plus 15000 PCR COVID-19 ont été réalisées dans cette unité et cela à partir du mois d'avril 2019.

Grand hommage à toute l'équipe du diagnostic COVID-19 du CLCC-Batna et toutes mes félicitations à la jeune équipe du Professeur Ahmed KASSAH-LAOUAR pour tous les efforts fournis.

Les antibiotiques : De la définition princeps à la totorésistance MECANISMES D'ACTION



Microbiologie clinique

Professeur A.KASSAH-LAOUAR
LCBM-CLCC-Faculté de médecine de Batna
Prkassah@yahoo.fr

I-Introduction

Les antibiotiques peuvent agir à différents niveaux de la structure bactérienne, le lieu et le mode d'action des antibiotiques peuvent être à la base d'une classification.

Les antibiotiques agissant sur la division cellulaire des bactéries sont dits bactériostatiques.

Les antibiotiques agissant sur la structure de la membrane cytoplasmique sont à la fois bactériostatiques et bactéricides selon leur concentration.

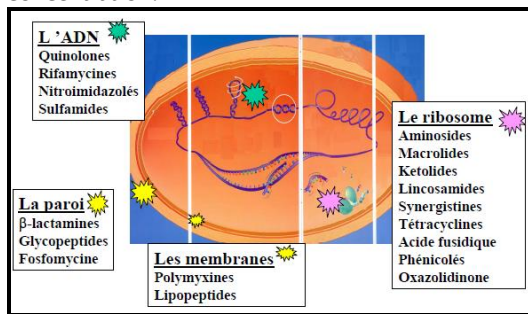


Figure -1- Cibles bactériennes des antibiotiques

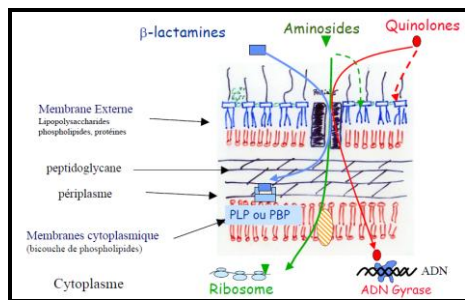


Figure -2- Accès des antibiotiques à leurs cibles

II- Conditions de l'activité d'un antibiotique

- Atteindre la cible : pénétrer
- la membrane externe des bactéries à Gram négatif (porines, LPS, caractère hydrophile ou hydrophobe des ATB)
- Paroi
- Membrane cytoplasmique
- Persister à des concentrations suffisantes
- Reconnaître la cible

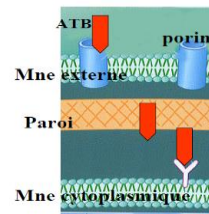


Figure-3- Chez les bactéries à Gram négatif

III- Caractéristiques physico-chimiques des antibiotiques

1- Hydrophilie / lipophilie

a- Ambiance lipophile :

- membranes cellulaires : double couche phospholipidique
- membrane cytoplasmique : Gram + et Gram-
- membrane externe : Gram-

b- Ambiance hydrophile :

- canaux des porines transmembranaires
- chaînes latérales polysaccharidiques du lipopolysaccharide : LPS

c- Antibiotiques hydrophiles :

- utilisent les porines pour pénétrer dans l'espace périplasmique des Gram-
- (β-lactamines, quinolones)
- désorganisent la membrane externe en se liant au LPS (aminosides)

d- Antibiotiques lipophiles :

- **macrolides, rifampicine, acide fusidique**

- ne peuvent franchir que des membranes phospholipidiques continues

- **Interactions** avec les chaînes hydrophiles extérieures des molécules de LPS de la membrane externe des Gram-

- niveau de résistance proportionnel au niveau de ces interactions :

- **Entérobactéries** = richesse ++++ en LPS
⇒ résistance naturelle aux macrolides (les mutants défectifs en LPS de *E. coli* sont 1000 fois plus sensibles que les souches parentales)

- **Méningocoques, Haemophilus** = richesse moindre en LPS ⇒ sensibilité de type intermédiaire aux macrolides

2- Charge électrique

- Certains antibiotiques possèdent une **charge dipolaire (zwitterion)**
- Céfépime, cefpirome
- Facilité pour la pénétration de la cellule bactérienne

3- Taille des molécules

- Les molécules hydrophiles de grande taille (vancomycine, bacitracine) ne peuvent franchir les porines de la membrane externe des Gram-
- Mutants de *E. coli* obtenus in vitro avec ↑ du diamètre des porines : S à la vancomycine

IV- Mode d'action des familles d'antibiotiques

Les antibiotiques agissent au niveau moléculaires de certaines structures bactériennes, appelées site d'action ou cible moléculaire propre à chaque famille d'antibiotiques.

Deux grands lieux d'action:

- La paroi
- Le cytoplasme

Cinq modes d'action:

- Sur la synthèse du peptidoglycane
- Altération de la membrane cytoplasmique
- Synthèse des protéines
- Synthèse des acides nucléiques
- sur le métabolisme intermédiaire

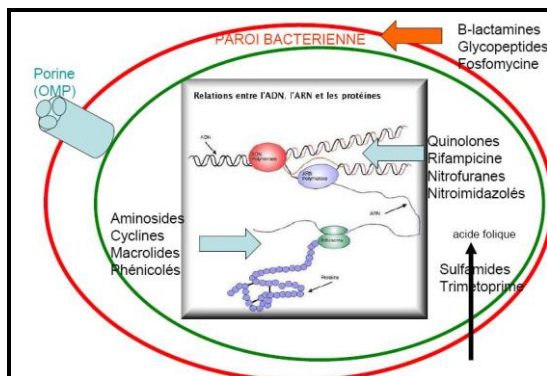


Figure-4- Mode d'action de principales familles d'antibiotique

1- Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

Les bêta-lactamines, les glycopeptides et la fosfomycine, la bacitracine et la cyclosérine sont des antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne, Le peptidoglycane confère à la bactérie sa forme et sa rigidité ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intra-cytoplasmique, La connaissance de la structure de la paroi bactérienne permet d'élucider, d'une part le mécanisme d'action des antibiotiques agissant à ce niveau et les mécanismes de résistance des bactéries à ces antibiotiques.

A- Structure du peptidoglycane

- polymère de chaînes linéaires polyosidiques,

- alternance de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique,
- addition sur NAM d'une courte chaîne peptidique, le pentapeptide,
- motif de base = disaccharide pentapeptide (NAG-NAM-pentapeptide),
- création de lésions osidiques et assemblage des chaînes glycaniques par les glycosyltransférases,
- création de lésions peptidiques entre le 3ème résidu d'un pentapeptide et le 4ème résidu d'un autre pentapeptide (D-Ala), soit directement, soit par un pont interpeptidique (notamment chez les cocci à Gram positif), par les transpeptidases,
- les transpeptidases doivent au préalable cliver la liaison D-Ala-D-Ala en position 4-5,
- les carboxypeptidases clivent ces mêmes liaisons D-Ala-D-Ala en 4-5, régulant ainsi l'activité des transpeptidases,
- les **autolysines** clivent les liaisons osidiques et les liaisons peptidiques, permettant le réarrangement et la finition du peptidoglycane.

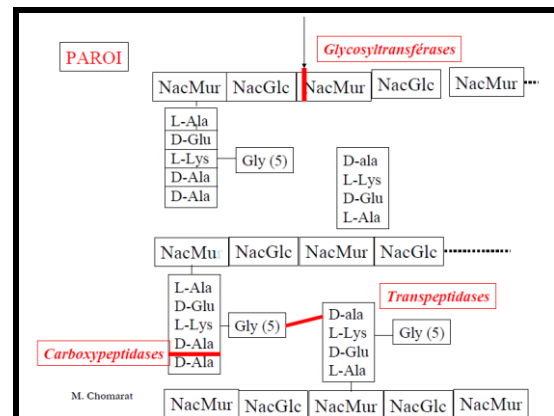


Figure-5-Structure générale du peptidoglycane

B- Etapes de la synthèse du peptidoglycane

La synthèse du peptidoglycane est complexe et nécessite l'activité d'environ trente enzymes différentes. Elle comporte trois étapes principales :

a- Étapes cytoplasmiques

Les étapes cytoplasmiques vont permettre la synthèse de la N-acétylglucosamine et de l'acide N-acétylmuramique lié à une unité pentapeptidique (et non à une unité térapeptidique comme c'est le cas dans le peptidoglycane final).

Cette synthèse s'effectue à partir de précurseurs par une série de réactions. Dans un premier temps on assiste à la formation de l'UDP-N-acétylglucosamine (UDP : nucléotide uridinediphosphate). Après addition du phosphoenolpyruvate (réaction catalysée par une pyruvyltransférase), l'UDP-N-acétylglucosamine

est transformée en acide UDP-N-acétylmuramique. L'acide UDP-N-acétylmuramique prend ensuite sa forme pentapeptidique par addition successive des trois premiers acides aminés puis par addition d'un dipeptide D-alanyl-D-alanine. La formation de ce dipeptide nécessite une racémase (conversion de la L-alanine en D-alanine) et une D-alanyl-D-alanine synthétase.

b- Étapes membranaires

Les étapes membranaires correspondent au transport des précurseurs au travers de la membrane cytoplasmique. Ce passage nécessite un transporteur lipidique, l'undécaprénylphosphate. Le N-acétylmuramylpentapeptide est transféré de l'UDP au transporteur pour donner un complexe undécaprénylpyrophosphate-N-acétylmuramylpentapeptide puis, après transfert de la N-acétylglucosamine, il se forme un complexe undécaprénylpyrophosphate-N-acétylmuramylpentapeptide-N-acétylglucosamine. Après fixation éventuelle sur le troisième (ou sur le deuxième) acide aminé des ponts interpeptidiques, ce complexe est transloqué dans la paroi en cours de formation. Cette dernière étape libère le transporteur membranaire sous la forme d'undécaprénylpyrophosphate qui doit être déphosphorylé pour effectuer un nouveau transport.

c- Étapes pariétales

La troisième phase qui s'effectue en deux étapes correspond à l'incorporation des précurseurs dans la paroi en formation.

Dans une première étape, il y a formation de liaisons osidiques entre les fragments glucidiques, réactions catalysées par des transglycosylases.

Dans une deuxième étape, ces chaînes glycaniques néosynthétisées sont incorporées au peptidoglycane préexistant avec mise en place de la réticulation. Le dernier résidu D-alanine du complexe N-acétylmuramyl-pentapeptide est clivé par des D-alanine carboxypeptidases (ou DD-peptidases) et l'énergie ainsi libérée est utilisée par des transpeptidases pour fixer le dernier acide aminé d'un pont interpeptidique sur le quatrième acide aminé d'une chaîne térapeptidique. D'autres enzymes sont présentes afin de permettre les remaniements de la paroi, en particulier lors de la division. Il s'agit, notamment des endopeptidases qui catalysent le clivage des ponts interpeptidiques impliqués dans la réticulation du peptidoglycane.

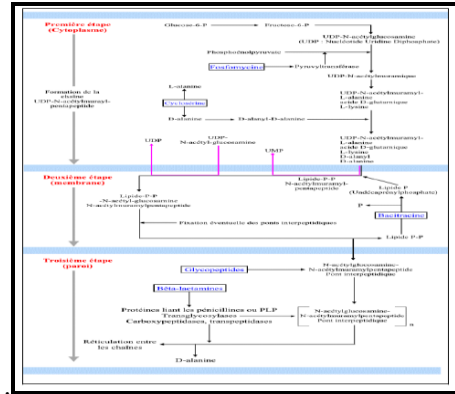


Figure-6- Différentes étapes de la synthèse du peptidoglycane

C- Rôle des PLP (élongation/réticulation)

- **Transglycosidases**: liaisons glycosidiques entre unités oligosaccharidiques → élongation de la chaîne glycanique (---G---M---G---M---G---)
- **Transpeptidases**: liaison peptidiques entre chaînes térapeptidiques → formation des ponts interpeptidiques --(Gly)₅--
- **Carboxypeptidases**: excision de D-Ala excédentaire, par coupure de la liaison peptidique D-Ala -D-Ala (pentapeptide → térapeptide)

1- Peptidoglycane des bactéries à Gram positif

- la membrane cytoplasmique est l'élément interne de la paroi des bactéries à Gram positif,
- la paroi est située juste au-dessus,
- elle est épaisse chez les bactéries à Gram positif,
- elle est constituée :
 - o d'un *peptidoglycane* très épais et très réticulé,
 - o et d'*acides teichoïques*, polyosides de glycérol ou de ribitol, fixés sur NAM, régulant
 - o le métabolisme magnésien des bactéries à Gram positif et inhibant l'action des autolysines,
 - o elle est assez poreuse aux antibiotiques de petite taille telles que les bêta-lactamines, sauf pour *E. faecalis* dont la paroi est riche en lipides,

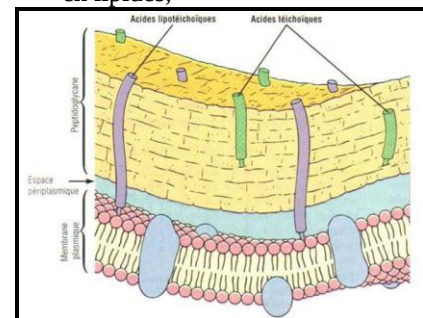


Figure-7- Structure du peptidoglycane des bactéries à Gram positif

2- Peptidoglycane des bactéries à Gram négatif

- leur structure est plus complexe que celle des bactéries à Gram positif, en raison de l'existence spécifique d'une membrane externe,
- la membrane externe représente une barrière de perméabilité protectrice à de nombreux antibiotiques et ralentit la pénétration de ceux qui sont diffusibles, tels les bêta-lactamines,
- elle est constituée d'une double couche phospholipidique hydrophobe au sein de laquelle sont enchâssés :
- les *lipopolysaccharides*(LPS), composés d'un lipide A hydrophobe impliqué dans genèse du choc septique à BGN lors de la lyse bactérienne (endotoxine), et de chaînes polysaccharidiques portant la spécificité antigénique (Ag O) de la bactérie,
- et des *protéines*, parmi lesquelles les porines, transporteurs de nutriments et d'éléments hydrophiles tels que certains antibiotiques, dont les bêta-lactamines,
- l'espace périplasmique est situé entre la membrane externe et la membrane cytoplasmique, il contient :
- une fine couche de *peptidoglycane*,
- des *toxines* bactériennes, des enzymes dont les *bêta-lactamases*

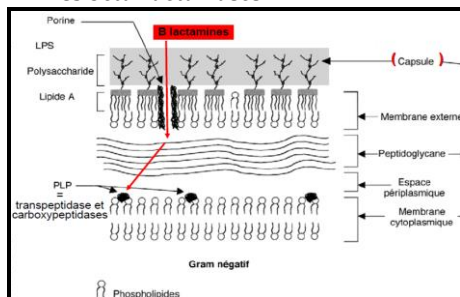


Figure-8- Structure des enveloppes des BGN

3- Protéines de liaison à la pénicilline (PLP)

- elles sont ancrées dans la membrane cytoplasmique par leur extrémité carboxylique,
- elles émergent sur la face externe de cette membrane dans l'espace périplasmique par leur extrémité NH₂ porteuse du site actif enzymatique,
- ce sont des enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane, à savoir les transpeptidases et les carboxypeptidases,
- les bêta-lactamines vont se lier de manière covalente avec les *transpeptidases* et les *carboxypeptidases*, rendant ainsi inactives ces enzymes, ce qui aboutit à l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane,

- la rupture de l'équilibre dynamique entre construction du peptidoglycane et son réarrangement par les autolysines va se faire en faveur des autolysines et est alors délétère pour la bactérie (bactéricidie).

4- Fonctions des PLP

- ❖ Les PLP 1A, 1B, 2 et 3 d'*Escherichia coli* ont une activité transpeptidasique avec toutefois des différences d'activité. Ainsi, l'inhibition des PLP 1A et 1B provoque la lyse des bactéries, l'inhibition de la PLP 2 provoque la formation de bactéries ovoïdes et celle de la PLP 3 l'apparition de formes filamenteuses non cloisonnées. Les PLP 1A, 1B et 3 ont aussi une activité transglycosylase non inhibée par les bêta-lactamines.

- ❖ Les PLP 4, 5 et 6 d'*E. coli* sont moins importantes, elles ont une activité D-alanine-carboxypeptidase et le blocage de ces PLP par les bêta-lactamines n'entraîne pas de modifications morphologiques des bactéries.

Selon les concentrations, la durée d'action et la nature des bêta-lactamines, les PLP ont des affinités différentes pour ces molécules ce qui explique les différences d'action observées entre les diverses bêta-lactamines. Ainsi, la pénicilline G se fixe principalement sur les PLP 1A, 1B, 2, 3 et, dans une moindre mesure 4 ; l'ampicilline sur les PLP 2 et 3 ; l'amoxicilline sur les PLP 1A et 3 ; toutes les céphalosporines se fixent sur la PLP 1A et certaines céphalosporines (céfalotine, cefuroxime, céfamandole, céfotaxime, ceftazidime) se fixent sur la PLP 3.

Les bêta-lactamines ont généralement un effet bactéricide mais celui-ci n'est pas dû à la seule fragilisation du peptidoglycane. Deux modèles principaux ont été proposés pour expliquer l'effet bactéricide :

- ❖ Chez *Streptococcus pneumoniae*, on a montré que les bêta-lactamines semblent activer des enzymes autolytiques (des muréine-hydrolases) par un mode d'action non élucidé. Les muréine-hydrolases sont nécessaires aux remaniements du peptidoglycane rendus obligatoire par la croissance et la division bactérienne.

Dans un autre modèle proposé, il n'y aurait pas activation des muréine-hydrolases mais leur fonctionnement normal suffirait à expliquer la lyse bactérienne car il se surajoute à une inhibition de synthèse du peptidoglycane.

Ces différents modes d'action expliquent que les bêta-lactamines ne sont actives que sur les bactéries en croissance qui synthétisent du peptidoglycane. Pour atteindre les PLP, les bêta-lactamines doivent traverser la paroi. La diffusion de ces molécules au travers de la paroi des bactéries à Gram positif est aisée, par contre, chez les bactéries à Gram négatif, la membrane externe empêche la diffusion de nombreuses molécules. Les bêta-lactamines actives

sur les bactéries à Gram négatif (pénicillines à large spectre à large spectre et céphalosporines) empruntent la voie des porines et leur passage est fonction de leur taille et de leur charge, mais aussi d'autres facteurs, tel que la nature du LPS qui pourrait y expliquer la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à de nombreuses bêta-lactamines.

A- Les Bêta-lactamines.

L'anneau bêtalactame est commun à tous les antibiotiques de cette famille. Leur mécanisme d'action est le suivant:

a- Pénétration jusqu'à la membrane cytoplasmique (rôle de la membrane externe et des porines chez les Gram négatif).

b- Fixation aux PBP ("Penicillin Binding Proteins"): ce sont des protéines localisées au niveau de la membrane cytoplasmique et dont certaines ont une activité de carboxypeptidase, d'endopeptidase ou de transpeptidase: ces enzymes sont impliquées dans la phase terminale de l'assemblage du peptidoglycane (voir plus haut).

c- Inhibition de la transpeptidation (par analogie de structure avec le dipeptide D.ala-D.ala).

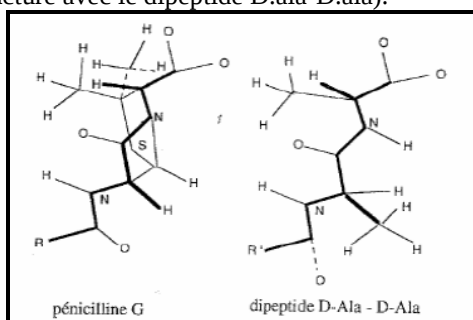


Figure-9- Structure de la pénicilline et de son analogue

d- Activation des autolysines (élimination ou inactivation d'un inhibiteur de ces enzymes, qui sont des hydrolases).

e- Mort bactérienne, accompagnée souvent de la lyse cellulaire.

1- Pénétration

a. Chez les bactéries à Gram positif :

Traversée facile, dont le peptidoglycane est relativement perméable aux bêta-lactamines (sauf celui de *E. faecalis*),

b. Chez les bactéries à Gram négatif :

Passage marginal par voie lipophile, les porines sont le moyen de passage préférentiel des bêta-lactamines hydrophiles de taille modérée ou faible : la membrane imprime un certain degré de ralentissement du passage passif des bêta-lactamines, la vitesse de diffusion varie avec la taille des molécules, leur hydrophilie relative et leur charge électrique, existence de pompes d'efflux (carbénicilline et système MexAB/OprM de *Pseudomonas aeruginosa*).

Chez ces bactéries à Gram négatif, ces propriétés de perméabilité vont contribuer à définir le phénotype

naturel de résistance propre à chaque espèce bactérienne.

2- Comportement vis-à-vis des bêta-lactamases de l'espace périplasmique.

a- Présence d'enzymes hydrolysant les bêta-lactamines dans l'espace périplasmique,

b- La résistance d'une bactérie à une bêta-lactamine survient lorsque la concentration de l'antibiotique dans l'espace périplasmique est inférieure à celle requise pour assurer la liaison aux PLP,

c- L'activité d'un antibiotique peut être prédite par le rapport entre sa vitesse de pénétration et sa résistance aux bêta-lactamases périplasmiques :

- si l'antibiotique est hydrolysable, il sera actif si sa vitesse de pénétration est supérieure à celle de l'hydrolyse par l'enzyme, mais il sera inactif si sa vitesse de pénétration est inférieure à celle de l'hydrolyse, (exemple : amoxicilline)

- si l'antibiotique est stable aux bêta-lactamases, il sera actif même s'il diffuse mal, (exemple : pipéracilline, C3G),

- si l'antibiotique présente une bonne pénétration et une grande stabilité vis-à-vis des bêta-lactamases, l'effet est cumulatif (exemple : céfépime, imipénème).

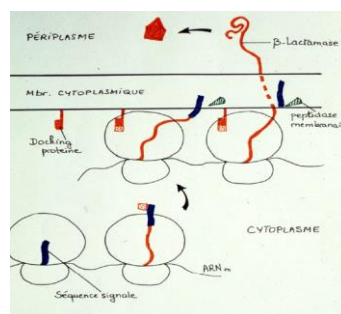


Figure-10- Synthèse et sécrétion d'une bêta-lactamase dans l'espace périplasmique

3- Multiplicité des PLP

- les PLP sont les enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane (transpeptidases et carboxypeptidases),
- l'inhibition de ces enzymes par leur liaison covalente avec les bêta-lactamines va se traduire par un arrêt de la synthèse du peptidoglycane et de la croissance bactérienne,
- en règle générale, les bêta-lactamines n'ont pas ou très peu d'affinité pour les PLP de bas poids moléculaire à activité carboxypeptidase,
- le nombre des PLP varie selon les espèces bactériennes,
- elles sont désignées par ordre décroissant de poids moléculaire,
- l'effet d'une bêta-lactamine sur une bactérie dépend de l'affinité qu'elle a vis-à-vis des différentes PLP,

- à des concentrations faibles, chaque bêta-lactamine a une affinité préférentielle différente vis-à-vis de chacune des PLP, l'affinité est maximale vis-à-vis de sa cible essentielle,
- à des concentrations plus élevées, d'autres PLP moins affines vont être inhibées.

4- Conséquences de la fixation aux PLP

- L'inhibition des PLP essentielles entraîne un arrêt de croissance (= effet bactériostatique). Trois effets morphologiques différents peuvent être observés selon les fixations préférentielles d'une bêta-lactamine sur la PLP :

- filamentation, (exemple : fixation préférentielle de l'ampicilline sur la PLP3 d'*E. coli*, avec augmentation de l'inoculum bactérien avant que la lyse ne survienne ou **bien** avant refragmentation en bactéries viables si le temps d'exposition à une concentration suffisante d'antibiotique n'est pas atteint),
- formation de sphéropastes suivie d'une lyse bactérienne, (exemple : fixation préférentielle de l'amoxicilline sur les PLP1a et 1b de *E. coli*, ce qui explique que chez *E. coli*, l'amoxicilline est plus rapidement et plus fortement bactéricide),
- formation d'éléments ovoïdes,
- différents jeux de PLP peuvent être inhibés simultanément.

5-Effet bactéricide :

- mise en jeu du système des autolysines, qui dégradent le peptidoglycane des bactéries en phase de croissance, (les bêta-lactamines ne sont pas bactéricides sur les bactéries en phase stationnaire),
- les bêta-lactamines sont des antibiotiques bactéricides (rapport CMB/CMi ~1), à vitesse de bactéricidie lente, dite temps-dépendante,

En Résumé

- Le peptidoglycane est en perpétuel remaniement :
 - il résulte d'un équilibre dynamique fragile entre activité de synthèse (PLP) et d'hydrolyse à bas niveau (autolysines),
 - toute rupture de cet équilibre, par inhibition des PLP (bêta-lactamines), puis activation des autolysines, est péjorative (mort) pour la bactérie.
- Les différences importantes d'activité des nombreuses bêta-lactamines sont expliquées par :
 - la variabilité de leur vitesse de pénétration,
 - la variabilité de leur stabilité vis-à-vis des bêta-lactamases périplasmiques,
 - leur affinité variable vis-à-vis des différentes PLP.

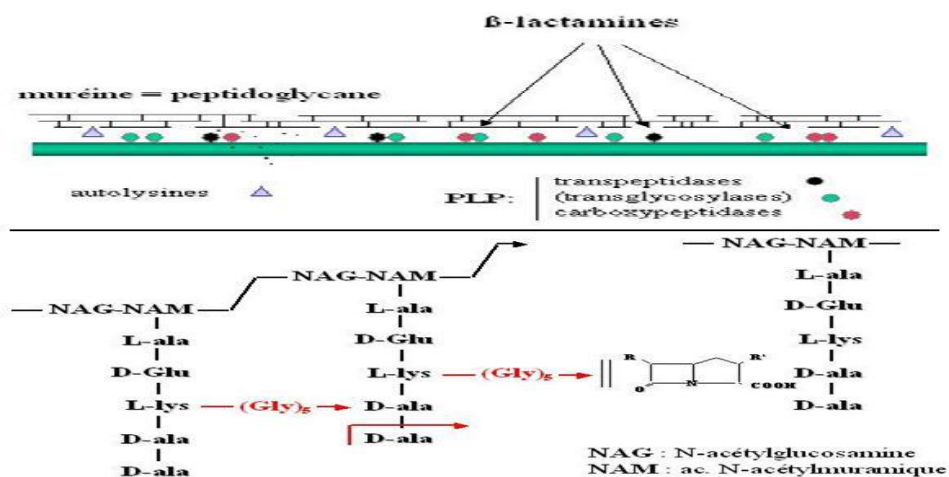


Figure-11- Action des bêta-lactamines sur la synthèse du peptidoglycane

B- Les glycopeptides

Les glycopeptides (vancomycine, ristocétine et teicoplanine), sont au même titre que les bêta-lactamines des inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane, ils ont une affinité pour les précurseurs du peptidoglycane comportant le dipeptide D-alanyl-D-alanine. Les cibles potentielles sont donc soit intracytoplasmiques soit situées au niveau de la paroi en formation. Ces cibles ne sont pas

toutes atteintes car elles ne sont pas toutes accessibles aux glycopeptides.

Leur action est toutefois différente: ils se fixent par leur fraction aglycone aux extrémités D-Ala-D-Ala du précurseur lipopeptidique et inhibent, par l'encombrement stérique qu'ils créent, l'action subséquente de la transpeptidase (catalysant l'enlèvement du D-Ala terminal et la réticulation du peptidoglycane) et de la transglycosylase

(responsable de la fixation de nouvelles sous-unités de disaccharide-pentapeptide sur le polymère en croissance).

La liaison du glycopeptide aux extrémités D-Ala-D-Ala est considérablement renforcée par la dimérisation des molécules d'antibiotiques (au niveau des sucres et des substituants chlorés de la fraction aglycone, comme c'est le cas dans la vancomycine) ou par l'ancrage de la molécule dans la membrane par un substituant lipophile (comme c'est le cas dans la teicoplanine).

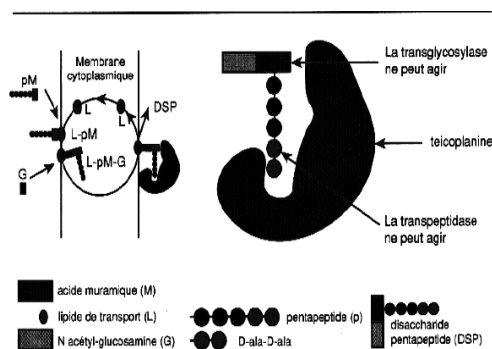
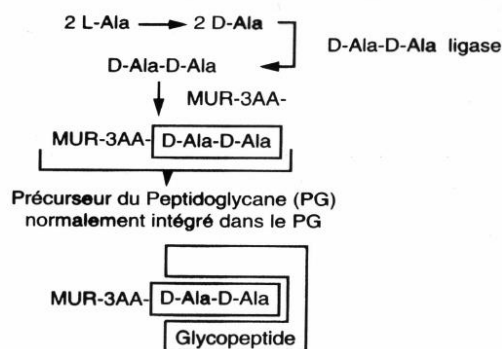


Figure-12-Inhibition par la teicoplanine de la transglycosylation et la transpeptidation

Aucune cible n'est atteinte chez les bactéries à Gram négatif car ces antibiotiques ne peuvent pas traverser la membrane externe. Ceci explique que les glycopeptides ont un spectre étroit limité aux bactéries à Gram positif (principalement streptocoques, entérocoques et staphylocoques).

Chez les bactéries à Gram positif, ces antibiotiques diffusent librement à travers les mailles du peptidoglycane. En revanche, ils ne peuvent traverser la membrane cytoplasmique et leur action s'exerce sur la paroi en formation. Grâce à des liaisons hydrogènes, les glycopeptides forment un complexe avec les dipeptides D-alanyl-D-alanine présents dans la paroi en formation. Les glycopeptides sont des molécules peu flexibles et leur conformation en forme de poche permet une interaction avec les groupements cibles selon un modèle "clé-serrure". Du fait de l'encombrement stérique induit par la présence de ces grosses molécules, il y a inhibition des transglycosylases et des transpeptidases. L'élongation de la paroi et la croissance bactérienne sont inhibées (effet bactériostatique), puis d'autres mécanismes doivent intervenir car les glycopeptides ont un effet bactéricide lent.



Le glycopeptide empêche cette intégration
Figure-13- Mode d'action des glycopeptides

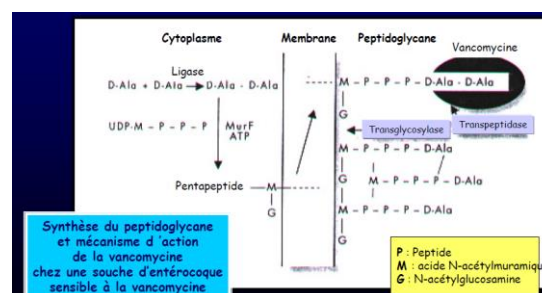


Figure-14- Mode d'action de la vancomycine

C- Fosfomycine

La fosfomycine (ou phosphomycine) inhibe la conversion de l'UDP-N-acétylglucosamine en acide UDP-N-acétylmuramique en se liant par une liaison covalente à un résidu cystéine de la pyruvyltransférase. Son spectre d'action est large, mais pour pouvoir pénétrer dans le cytoplasme la fosfomycine doit franchir la membrane cytoplasmique en empruntant deux systèmes de transport : celui des L-a-glycérophosphates et celui des hexoses-phosphates. Ce dernier système de transport est inducible par le glucose-6 P et, pour la détermination in vitro de la sensibilité à la fosfomycine, il convient d'utiliser un milieu contenant du glucose-6P inhibe une transférase par analogie stérique avec le phosphoénolpyruvate. La fosfomycine à une action bactéricide.

D- Cyclosérine

La cyclosérine qui présente une analogie de structure avec la D-alanine inhibe la racémase transformant la L-alanine en D-alanine et la D-alanyl-D-alanine synthétase. Sous l'action de cet antibiotique toxique, peu ou pas utilisé en thérapeutique (sauf dans le traitement de certaines formes de tuberculose), il se produit une accumulation d'UDP-N-acétyl-muramy-ltripeptide.

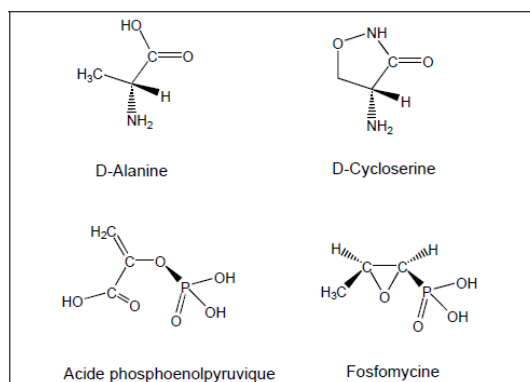


Figure-15- Structure de la fosfomycine et de la cyclosérine

Analogie de structure d'une part entre D-cyclosérine et D-alanine et d'autre part entre acide phosphoenolpyruvique et la fosfomycine

Bacitracine

La bacitracine, active uniquement sur les bactéries à Gram positif (la membrane externe des bactéries à Gram négatif est imperméable à cette molécule), forme un complexe irréversible avec l'undécaprénylpyrophosphate et inhibe sa déphosphorylation. Cette fixation sur le lipide transporteur qui est un constituant de la membrane cytoplasmique pourrait être à l'origine de lésions membranaires. La toxicité de la bacitracine interdit son utilisation par voie générale.

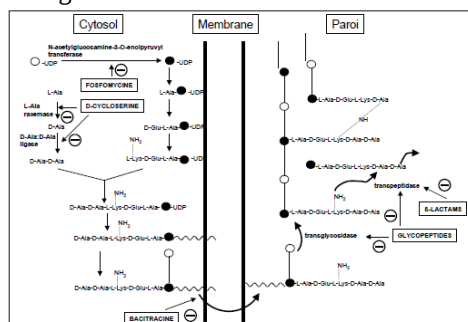


Figure-16- synthèse de la paroi bactérienne et interaction des différents antibiotiques agissant sur le P.G

Cibles d'action des antibiotiques agissant sur le peptidoglycane

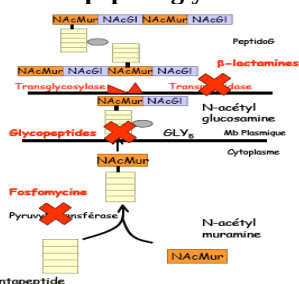


Figure-16-Cibles d'action des antibiotiques agissant sur le peptidoglycane

II- Antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique

Les polymyxines, polymyxine B et polymyxine E (ou colistine) sont des détergents cationiques. Elles sont constituées d'un polypeptide cyclique et d'un acide gras. Par leur caractère amphipathique (hydrophobe), elles pénètrent à l'intérieur de la membrane et s'incorporent à la couche lipidique et détruisent la membrane bactérienne, alors que l'extrémité hydrophile reste orientée vers l'extérieur. Il en résulte une désorganisation de la structure membranaire ce qui provoque la mort de la cellule.

Les polymyxines actives sur les bactéries à Gram négatif, agissent tout d'abord sur la membrane externe entraînant des modifications morphologiques comme la formation de vésicules puis, la membrane cytoplasmique est atteinte ce qui provoque la fuite de substances intracellulaires et la mort des bactéries.

Elles sont incapables de diffuser à travers le peptidoglycane très épais des Gram (+) mais se lient facilement aux lipides de la membrane externe des Gram (-) puis rejoignent via des canaux la membrane cytosolique de ces derniers. Leur spectre est donc réduit aux Gram (-) y compris *Pseudomonas aeruginosa*. Leur activité bactéricide est importante, en raison des perturbations membranaires qu'ils engendrent.

En raison de la similitude entre les membranes des cellules bactériennes et des cellules eucaryotes, les antibiotiques actifs sur la membrane sont toxiques et seul un nombre restreint de molécules a trouvé une utilisation thérapeutique.

III- Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines

A- Rappel sur la synthèse protéique

1- Le ribosome

C'est la chaîne ou l'usine de production des protéines, il est de 70S. Le ribosome des cellules procaryotes est constitué de 02 sous unités : SU 50S et SU 30S, leur nombre est d'environ 20000 par cellule ce qui représente 20% de la biomasse. La masse des ribosomes est constituée d'environ 2/3 d'ARN.

2- Mécanisme de la synthèse des protéines

Trois phases : initiation, élongation, terminaison.

a- **Initiation** : association de l'ARNm et de l'aminoacyl-tRNA initiateur à la petite sous unité ribosomale, suivi par la fixation à la grande sous unité.

b- **Elongation** : synthèse du peptide avec la fixation des ARNt

au site (A) et du peptidyl au site (P).

- c- **Terminaison** a lieu au niveau des « codons stop ».

. **Au cours de la phase d'initiation**, la sous-unité 30S du ribosome et un complexe formyl-méthionine-ARNt se fixe au site d'initiation AUG d'une molécule d'ARNm. Trois protéines, les facteurs d'initiation, sont nécessaires au bon déroulement de cette phase. Ultérieurement, la sous-unité 50S se lie à ce complexe d'initiation pour former le ribosome 70S.

. **Au cours de la phase d'élongation**, les acides aminés constituant le peptide vont s'incorporer de manière séquentielle. Cette phase peut être décomposée en trois stades : **reconnaissance**, **transfert peptidique** et **translocation**. Dans l'étape de reconnaissance, une molécule d'acide-aminé-ARNt se fixe sur le site A (aminoacyl ou accepteur) du ribosome. Puis vient l'étape de transfert du peptide en formation du site P (peptidyl) au site A et liaison peptidique à l'acide aminé du site A : la chaîne peptidique s'allonge donc d'un acide-aminé. L'étape de translocation a pour but de ramener le peptide au site P. Cette phase d'élongation fait intervenir trois protéines appelées facteurs d'élongation (EF).

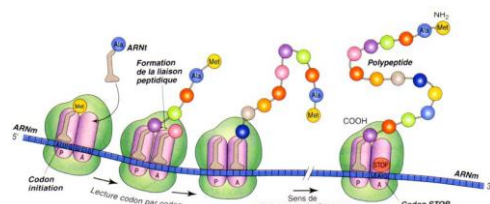


Figure-17-Bilan de la synthèse protéique : la traduction

Terminaison : L'incorporation des acides aminés se répète jusqu'à ce qu'un codon de terminaison soit reconnu sur l'ARNm. Grâce à l'action de trois protéines accessoires, vont intervenir la libération du peptide, la séparation du ribosome et de l'ARNm et la dissociation du ribosome en ses deux sous-unités. Plusieurs familles d'antibiotiques inhibent la synthèse des protéines en agissant préférentiellement soit sur la sous-unité 30S soit sur la sous-unité 50S des ribosomes.

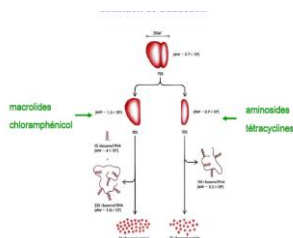


Figure-17-Inhibition de la traduction

A- Antibiotiques agissant sur la sous-unité 30S

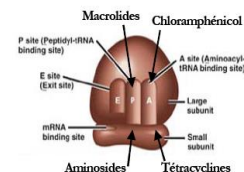


Figure-18- Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse 1- 1- 1- Aminosides

Les aminosides ou aminoglycosides sont des antibiotiques à large spectre (à l'exception des bactéries anaérobies, des streptocoques et des entérocoques) et généralement bactéricides.

a- Pénétration intrabactérienne.

Après fixation à des sites chargés négativement sur la paroi bactérienne, l'aminoglycoside franchit la membrane externe par des porines. Cette pénétration se fait par un mécanisme de transport actif impliquant deux étapes, dont la seconde requiert la présence d'oxygène (système transporteur d'électrons et de l'oxygène comme accepteur final (enzymes de la chaîne respiratoire). Les bactéries anaérobies (ainsi que les streptocoques et les entérocoques qui sont en fait des bactéries anaérobies aérotolérantes) sont naturellement résistantes car elles sont dépourvues de ce système et sont donc exclues d'emblée du spectre d'activité des aminoglycosides. Par contre, l'altération de la paroi bactérienne par des antibiotiques agissant sur la synthèse de celle-ci (β -lactames) facilite la pénétration des aminoglycosides.

b- Activité intrabactérienne

Dans le cytoplasme bactérien, l'aminoglycoside se fixe à des sites spécifiques de la sous-unité 30S principalement et, accessoirement, de la sous-unité 50S des ribosomes (la streptomycine ne se lie qu'à une seule protéine de la sous-unité 30S). La constitution particulière des ribosomes bactériens assure la sélectivité d'action des aminoglycosides vis-à-vis de ces cellules (seules les molécules possédant un hydroxyle en 6' sont capables d'inhiber la synthèse protéique chez les eucaryotes). La liaison de l'antibiotique perturbe la synthèse protéique par un mécanisme complexe qui inclut, d'une part, l'inhibition de l'étape d'élongation (en empêchant le transfert du peptidyl-ARNt depuis le site A vers le site P) et, d'autre part, l'introduction d'erreurs dans la lecture de l'ARNm, conduisant à la production de protéines erronées (cet effet est dû au fait que la liaison de l'antibiotique au ribosome l'empêche de contribuer, comme il doit le faire,

à la stabilité et la précision de la reconnaissance codon-anticodon au moment de la lecture de l'ARNm.

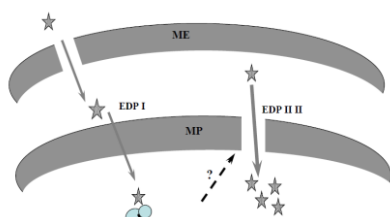


Figure-19- Transfert de l'aminoside de l'extérieur
Les aminoglycosides sont rapidement bactéricides. Cette bactéricidie est **proportionnelle à la concentration d'antibiotique** et indépendante de l'inoculum bactérien. La valeur du pic sérique (ou plus précisément le rapport pic/CMI) sera donc le paramètre pharmacodynamique déterminant pour déterminer l'efficacité de ces antibiotiques.

Les aminoglycosides sont en outre caractérisés par un effet postantibiotique (EPA) important, probablement parce que leur liaison aux ribosomes est irréversible. Enfin, les aminoglycosides sont soumis à un effet de première exposition: les bactéries exposées aux aminoglycosides mais non tuées sont capables de diminuer le nombre de récepteurs aux aminoglycosides, devenant ainsi transitoirement insensibles à une nouvelle administration d'antibiotique.

Ces trois propriétés (bactéricidie dose-dépendante; effet postantibiotique; effet de première exposition) justifieront l'usage de doses élevées et espacées. La synergie avec les β -lactames s'applique par un effet sur la pénétration des aminoglycosides.

3- Les tétracyclines et les glycyliclines

Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques à large spectre comprenant les bactéries intracellulaires et les mycoplasmes. Chez les bactéries à Gram négatif, la traversée de la membrane externe se fait par les porines ou directement à travers la couche phospholipidique (doxycyclines, minocyclines). Le franchissement de la membrane cytoplasmique se fait par diffusion passive mais aussi grâce à un ou à des systèmes de transport actif permettant l'accumulation dans les bactéries.

Les tétracyclines sont actives sur les bactéries intracellulaires et leur absence de toxicité pour les cellules eucaryotes (dont les ribosomes sont pourtant sensibles) serait liée à une concentration intracytoplasmique faible alors que l'accumulation intrabactérienne est importante grâce au transport actif à travers la membrane cytoplasmique (les faibles quantités

de tétracyclines qui pénètrent dans le cytoplasme des cellules eucaryotes sont rapidement concentrées dans le cytoplasme bactérien des bactéries intracellulaires).

Les tétracyclines se fixent sur les ribosomes au niveau du site A par liaison avec les protéines de la sous-unité 30S. Cette fixation inhibe celle de l'aminocyl-ARNt et bloque l'étape de reconnaissance de la phase d'élongation de la chaîne peptidique.

a- Pénétration dans la bactérie

Les tétracyclines et glycyliclines pénètrent dans la bactérie au moyen d'un transporteur actif, situé sur la membrane cytoplasmique. Celui-ci, présent uniquement chez les procaryotes, garantit l'accumulation préférentielle du médicament dans ces cellules, et donc, sa spécificité d'action.

b- Activité intrabactérienne

Les tétracyclines et glycyliclines, concentrées dans le cytoplasme bactérien, se lient à la sous-unité 30S des ribosomes et inhibent l'étape de traduction de la synthèse protéique en s'opposant à la liaison du complexe acide aminé - ARNt au complexe ribosome - ARNm.

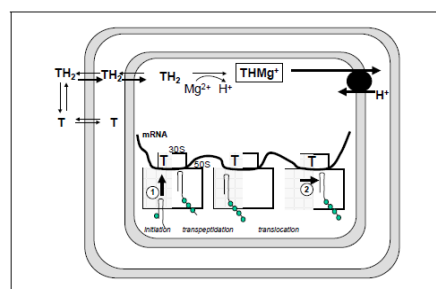


Figure-20- Accumulation, activité antibiotique et efflux des tétracyclines (à partir de données de Geienmüller&Nierhaus, Eur. J. Biochem. 1986 161: 723-726 et de Yamaguchi et al., J. Biol. Chem, 1990 265: 4809-4813)

B- Antibiotiques agissant sur la sous unité 50S

1. Macrolides-Apparentés-Streptogramines

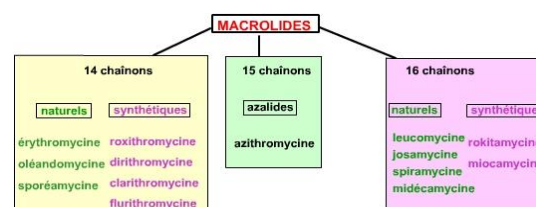


Figure-21 – Classification des macrolides

Les macrolides lincosamides et streptogramines (MLS) sont apparentés par leur spectre d'activité, leur mécanisme d'action et les mécanismes de résistance.

Les MLS ont un spectre concernant les coques, les bacilles à Gram positif et certains bacilles à Gram négatif tels que les *Legionella*, *Pasteurella*, *Campylobacter*, *Bacteroides*, ...). Par contre, les *Haemophilus* sont peu sensibles et les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* sont naturellement résistants. Cette insensibilité de la plupart des bacilles à Gram négatif est due à une absence de pénétration.

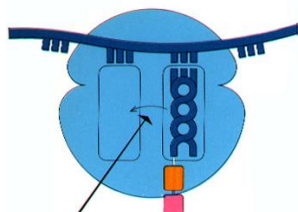


Figure 22- Cible d'action des macrolides

Les macrolides se fixent sur la sous-unité 50S, notamment au niveau de l'ARN ribosomal 23S, au voisinage du site P. Le mécanisme exact pourrait être une inhibition de l'élongation du peptide en cours de synthèse par blocage des étapes de transfert peptidique ou de translocation? fragilisation de la liaison peptidyl-ARNt-ribosome, d'où une dissociation prématurée de ce complexe au cours de la translocation ?

La fixation des macrolides sur la sous-unité 50S empêche l'action du chloramphénicol.

Les MLS inhibent la synthèse protéique en se liant à l'ARN ribosomal 23S de la sous-unité 50S du ribosome. Elles empêchent l'allongement de la chaîne peptidique en agissant sur la transpeptidation.

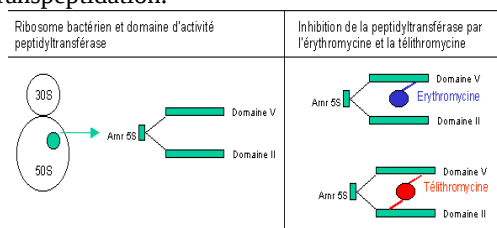


Figure 23- Domaine d'activité d'un macrolide

a. Activité intrabactérienne

Les macrolides se fixent à la sous-unité 50S des ribosomes bactériens, au niveau du site P. Le site de fixation des macrolides est en fait localisé à l'entrée du tunnel emprunté par le peptide en croissance pour sortir du ribosome. Ils empêchent ainsi l'élongation de la chaîne polypeptidique. La liaison des kétolides au ribosome est modifiée par l'absence de cladinose : contrairement aux macrolides conventionnels qui ne se lient qu'à un domaine du ribosome bactérien (le domaine V), les kétolides se lient à deux domaines (les domaines II et V). Ceci leur permet de faire preuve d'une activité égale ou même souvent

supérieure à l'érythromycine vis-à-vis des germes sensibles, mais surtout de conserver une certaine affinité vis-à-vis des ribosomes méthylés au niveau du domaine V.



Figure 24- Structure secondaire des domaines II et V de l'ARN 23S

b. Caractéristiques de l'activité antibiotique

Les macrolides exercent une activité bactériostatique, qui peut devenir bactéricide à dose suffisante. Leur efficacité est inversement proportionnelle à l'importance de l'inoculum bactérien. L'activité de la télithromycine et de l'azithromycine dépend d'avantage de la concentration au site d'infections que celle des autres macrolides, dont l'activité dépend essentiellement de la durée d'exposition.

En raison de leur site de liaison commun aux ribosomes, macrolides, lincosamides et phénicolés sont antagonistes et subissent également une résistance croisée

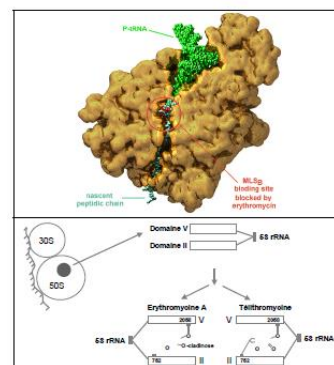


Figure 24- Site de liaison de l'érythromycine dans le ribosome et comparaison de la liaison d'un macrolide et d'un kétolide au ribosome bactérien

❖ Kétolides

Le mode d'action des kétolides fait intervenir une liaison à la sous-unité 50S comme les macrolides conventionnels, mais il existe également un deuxième site d'interaction avec cette même sous-unité 50S, ce qui explique la persistance de l'activité des kétolides vis-à-vis des souches bactériennes qui ont développé des mécanismes de résistances vis-à-vis des macrolides.

❖ Lincosamides

Les lincosamides semblent surtout inhiber la formation des liaisons peptidiques. Leur site de

fixation sur la sous-unité 50S semble identique à celui des macrolides et elles sont capables de déplacer ces derniers. Ce sont des inhibiteurs de la synthèse protéique, elles inhibent l'étape de transpeptidation des chaînes en croissance. En raison de leur site de fixation commun sur les ribosomes, les lincosamides sont des antagonistes des macrolides et des phénicolés.

❖ Synergistines (streptogramines)

Les streptogramines ou synergistines sont formées de deux composants macrocycliques A et B agissant en synergie. Chacun des composés des streptogramines, pris isolément, entraîne une bactériostase par blocage réversible de la synthèse protéique. Le mélange des deux composants inhibe la croissance à des concentrations plus faibles et entraîne une bactéricidie par blocage irréversible des synthèses protéiques.

Les synergistines sont des antibiotiques bien actifs (notamment sur les staphylocoques) et très bien tolérés. Ces avantages se sont heurtés longtemps au manque d'une forme galénique assurant une concentration plasmatique adéquate.

Les synergistines agissent sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien et interfèrent par deux mécanismes distincts avec le métabolisme de l'ARN: d'une part, elles s'opposent à l'incorporation de l'ARNr dans les ribosomes et, d'autre part, elles empêchent la translation de l'ARNm.

2. Oxazolidinones

Les oxazolidinones agissent en inhibant une étape précoce de la synthèse des protéines. Ils se lient à la sous-unité 50S des ribosomes (probablement au même site que les phénicolés et les lincosamides). Leur action est cependant plus précoce: ils empêchent l'approche de la sous-unité 30S et la formation du ribosome 70S.

Ces antibiotiques agissent sur une étape précoce de la synthèse des protéines, en inhibant la formation du complexe d'initiation (ribosome-ARNm- fMet-tARN. Il n'y a donc en principe pas d'antagonisme ou de résistance croisée avec les autres antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique qui agissent en aval. Ce mécanisme d'action étant unique, il n'existe pas de résistance croisée avec d'autres familles d'antibiotiques.

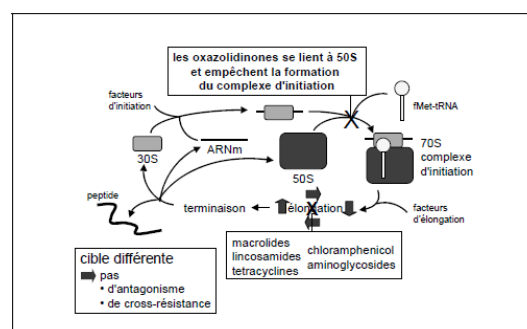


Figure-25- Mode d'action des oxazolidinones

3. Phénicolés

Le chloramphénicol et le thiamphénicol sont les deux seuls représentants de cette classe thérapeutique.

Comme les macrolides et les lincosamides, les phénicolés se fixent à la sous-unité 50S des ribosomes bactériens. Ils inhibent la synthèse des protéines en empêchant la liaison du complexe acide aminé - ARNt à son site de fixation, et donc la réaction de transpeptidation.

L'action du chloramphénicol n'est pas tout à fait spécifique, dans la mesure où elle peut également s'exercer dans les cellules de mammifères, et plus spécialement, les cellules souches des cellules sanguines.

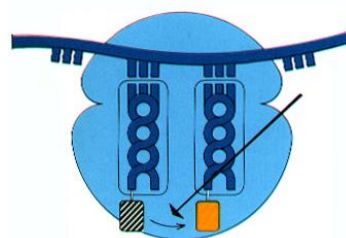


Figure-26- Cible d'action des phénicolés

4. Acide fusidique

La structure générale de l'acide fusidique rappelle celle des stéroïdes. Toutefois, sa configuration stéréochimique est complètement différente et il est dès lors totalement dépourvu d'effet hormonal. Donc c'est un antibiotique de nature stéroïdique et hydrophobe.

L'acide fusidique est lentement bactéricide. Son action s'exerce sur la synthèse protéique et se manifeste par une inhibition de la translocation des chaînes d'acides aminés en croissance, en se fixant au facteur EF-G d'élongation de la traduction, empêche la fixation des amino-acyl-ARNt, il s'agit d'une stabilisation du complexe ribosome-facteur d'élongation.

La sélection de souches résistantes en cours de traitement est presque toujours observée, ce qui empêche l'usage de ce médicament en monothérapie. Son spectre d'activité ne couvre

que les Gram (+) et ses seules indications (toujours en association) consistent dès lors dans le traitement des staphylococcies multirésistantes.

IV- Antibiotiques actifs sur l'ADN

1. Rappel de la synthèse de l'ADN et de l'ARN : ouverture du cycle

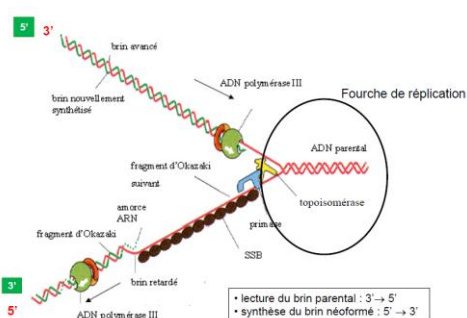


Figure-26- synthèse des acides nucléiques

2. Inhibition de la réplication

2.1. Inhibiteurs de l'ADN gyrase bactérienne et la topoisomérase IV.

Les topoisomérases sont les enzymes responsables du superenroulement de la molécule d'ADN (ADN-Gyrase), nécessaire à son stockage sous forme compacte ou, inversement, au déroulement local s'opérant lors de la traduction en ARNm (topoisomérase IV). Chacune de ces enzymes est constituée de 4 sous-unités organisées en 2 paires identiques responsables respectivement de la liaison de l'ADN (GyrB/ParE) et de l'action catalytique (GyrA/ParC).

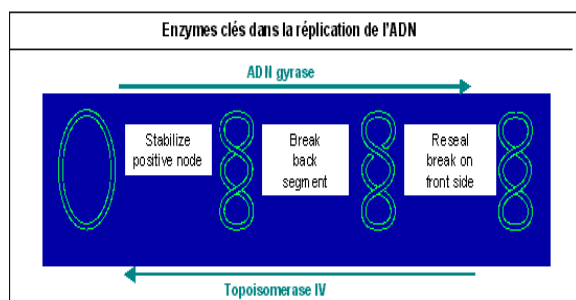


Figure-27- Enzymes clés dans la réplication de l'ADN

2.1.1. Les gyrases de l'ADN ou topoisomérase II. Catalyse (ATP-dépendant) l'introduction de 'negative supercoils' dans l'ADN.

L'ADN Gyrase, est composée de deux sous-unités **GyrA** codées par le gène *gyrA* et de deux sous-unités **GyrB** codées par le gène *gyrB*. Elle introduit un super-enroulement négatif dans la double hélice d'ADN bactérien en amont de la fourche de réplication.

Cette activité est essentielle pour l'initiation de la réplication de l'ADN bactérien et pour la transcription.

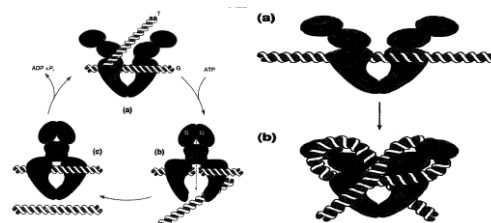


Figure-28- Rôle des gyrases

2.1.2. La topoisomérase IV

La **topoisomérase IV** a une activité de décaténation qui permet la séparation des chromosomes répliqués à la fin d'une séquence de réplication. Elle est composée de 4 sous-unités homologues de celles de la gyrase, deux sous-unités **ParC** (homologues de GyrA) et deux sous-unités **ParE** (homologues de GyrB) encodées par les gènes *parC* et *parE* respectivement.

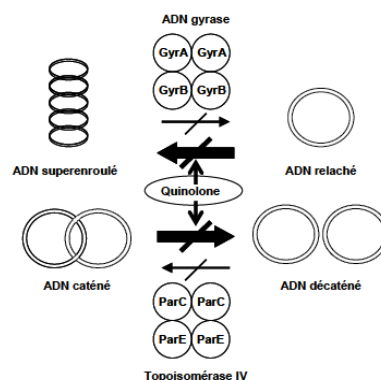


Figure -29- Effet des quinolones sur l'ADN gyrase et la topoisomérase IV

3. Fluoroquinolones

Lorsqu'elles ont diffusé dans le cytoplasme, les fluoroquinolones vont inhiber de manière sélective la réplication de l'ADN bactérien. Les fluoroquinolones ciblent deux enzymes parentes appartenant à la famille des topoisomérases II et qui sont impliquées dans la synthèse de l'ADN bactérien : l'**ADN-gyrase** (généralement cible principale chez les bactéries à Gram négatif) et la **topoisomérase IV** (généralement cible principale chez les bactéries à Gram positif) (106). Les nouvelles fluoroquinolones comme la gatifloxacine et la moxifloxacine possèdent les deux activités.

Les fluoroquinolones interagissent avec le complexe enzyme-ADN (la gyrase ou la topoisomérase IV), ceci crée des changements conformationnels qui entraînent l'inhibition de l'activité normale de l'enzyme. La mort cellulaire induite par les fluoroquinolones passe par deux étapes.

- La première est réversible (bactériostatique), elle consiste en la formation du **complexe quinolone-enzyme-ADN** qui bloque la progression de la fourche de réplication et inhibe ainsi la synthèse de l'ADN bactérien). Ceci induit une réponse de type SOS qui conduit à la filamentation puis à la mort de la bactérie.

- La seconde étape, qui conduit à la fragmentation des chromosomes, requiert des concentrations de quinolone plus importantes. Les complexes quinolone-enzyme-ADN qui sont répartis tout le long du chromosome entraînent des cassures de l'ADN afin de libérer les contraintes, dues au super-enroulement ce qui conduit à la fragmentation du chromosome et à la mort cellulaire.

Les quinolones s'intercalent sous forme de complexe de magnésium entre les deux brins du DNA bactérien. Elles empêchent la soudure des brins de DNA dans un état sur-enroulé, et donc la formation de chromosomes à l'état compact.

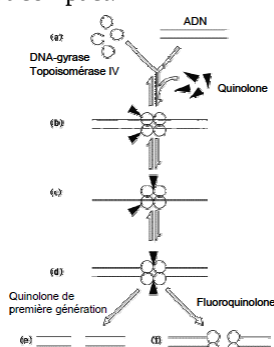


Figure-30- Schéma général du mode d'action des quinolones : Mort cellulaire

- Formation d'un complexe ternaire Quinolone-enzyme-ADN
- Liaison des quinolones aux sous-unités GyrA ou ParC
- Coupure du premier brin d'ADN et formation d'un complexe de clivage
- Coupure du deuxième brin d'ADN (correspond à l'activité bactériostatique)
- Coupures des doubles brins (mort cellulaire)
- Coupures des doubles brins par dissociation des sous-unités (mort cellulaire)

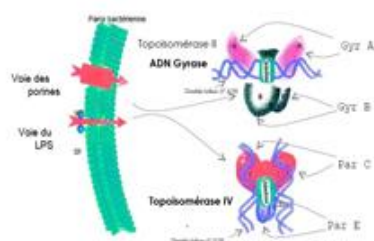


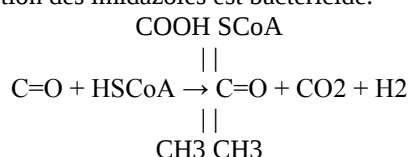
Figure-31- Mode d'action des quinolones (*D'après Drlica et al. 1997*)

4. Imidazolés

Les imidazolés sont des molécules dont l'action nécessite une réduction de leur groupement NO₂ que seules les bactéries anaérobies sont capables de réaliser. *Helicobacter pylori* et *Gardnerella vaginalis*, qui sont des bactéries microaérophiles, constituent des exceptions puisqu'elles sont elles aussi capables d'effectuer cette réduction et sont sensibles aux antibiotiques de ce groupe.

Les dérivés réduits sont les produits biologiquement actifs qui se fixent sur l'ADN et provoquent une oxydation suivie d'une coupure des brins d'ADN.

L'action des imidazolés est bactéricide.



L'hydrogène ainsi produit réduit progressivement la fonction nitro selon la séquence:



5. Nitrofuranes

Le mode d'action des nitrofuranes s'apparente à celui des imidazolés. Leur activité nécessite une réduction de leur groupement NO₂. Cependant, cette réduction est réalisée par les nitroréductases des bactéries aérobies. Les dérivés réduits provoquent des coupures et des mutations dans l'ADN et leur effet est bactériostatique ou bactéricide selon la dose.

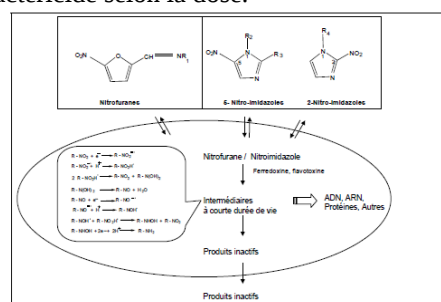


Figure-32- Mode d'action des nitrofuranes et nitroimidazoles:

- passage à travers la membrane, (ii) réduction en intermédiaires hautement réactifs, (iii) interaction avec des cibles intracellulaires, (iv) libération de produits inactifs.

6. Inhibition de la transcription

Ansamycines : Rifampicine

La rifampicine inhibe spécifiquement l'ARN polymérase bactérienne en formant un complexe avec cet enzyme. Cette enzyme comporte 5 sous-unités: 2 sous-unités α établissant le contact avec les facteurs de transcriptions de l'ADN, une sous-unité β' liant

l'ADN, une sous-unité β constituant le site actif proprement-dit et un facteur σ n'intervenant que dans l'initiation de la transcription. La rifampicine se lie par des interactions hydrophobes au niveau de son "anse" à la sous-unité β , empêchant la transcription de l'ADN en ARNm et entraînant ainsi une réduction de la synthèse protéique.

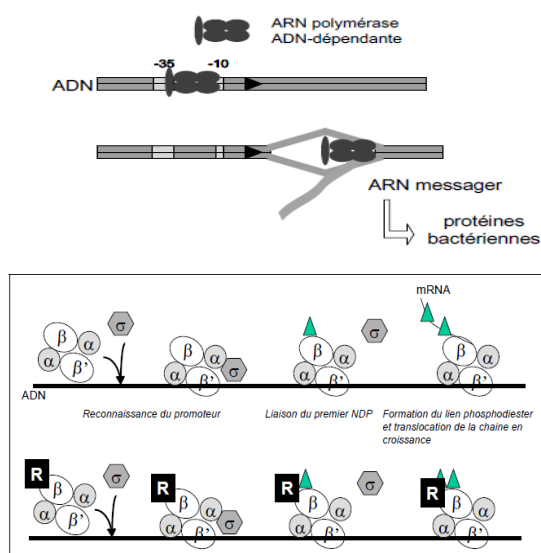


Figure-33- Synthèse de l'ARNm par l'ARN polymérase (panneau supérieur) et inhibition par la rifampicine (carré noir; panneau inférieur).

L'ARN polymérase comporte 4 sous-unités, parmi lesquelles β' se lie à l'AND et β se lie au ribonucléotidediphosphate (NDP; triangle). Le facteur σ participe uniquement à l'initiation en permettant la reconnaissance par l'enzyme de séquences promoteurs sur l'ADN.

La rifampicine se lie à la sous-unité β . Elle n'interfère pas avec la liaison du nucléotide diphosphate, mais empêche l'initiation de la transcription, en inhibant soit la formation du premier lien phosphodiester, soit, plus probablement, la réaction de translocation du dinucléotide nouvellement synthétisé.

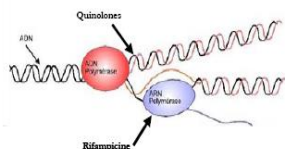
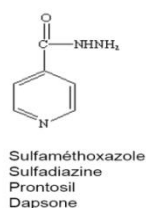


Figure-34- Mode d'action des quinolones et de la rifampicine

5. Inhibiteurs de synthèse

Le triméthoprim est bactériostatique. L'acide tétrahydrofolique intervient dans la synthèse des purines et des pyrimidines qui servent de précurseurs dans la synthèse de l'ADN. Sa synthèse est inhibée par les sulfamides et le triméthoprim.

Sulfamides



2,4 aminopyridines

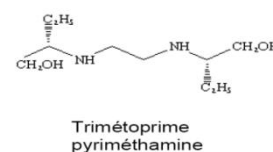


Figure-35- Structure des sulfamides et aminopyridines

Mode d'action

Sulfamidés et diaminopyridines agissent au niveau d'étapes successives de la synthèse de l'acide folique, les seconds étant des potentialisateurs de l'activité des premiers. L'acide folique est un cofacteur de la synthèse ultérieure des bases puriques et pyrimidiques.

a. Les sulfamidés

Les sulfamidés inhibent la synthèse d'acide dihydrofolique en agissant à deux niveaux sur l'activité de la dihydroptéroate synthétase:

- ils empêchent l'activation de la dihydroptéridine par phosphorylation, qui est nécessaire à la fixation de l'acide para-aminobenzoïque.

- ils inhibent la fixation à la dihydroptéridine phosphorylée de l'acide paraaminobenzoïque (PAB) en se liant à la dihydroptéridine par leur groupe sulfanilamide, analogue de l'acide para-aminobenzoïque (PAB).

La sélectivité d'action des sulfamidés provient du fait que les bactéries doivent synthétiser leur acide folique par cette voie métabolique, alors que les eucaryotes assimilent directement l'acide folique apporté par l'alimentation.

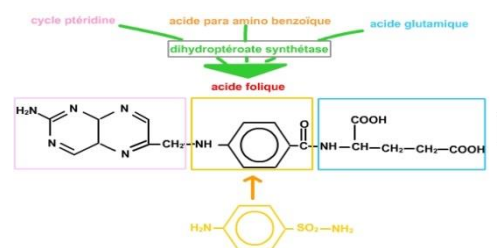


Figure-36- Synthèse de l'acide folique

b. Diaminopyrimidine

Les 2-4-diaminopyrimidines, comme le triméthoprim, sont des analogues de l'acide dihydrofolique. Ils inhibent l'action de la dihydrofolate réductase.

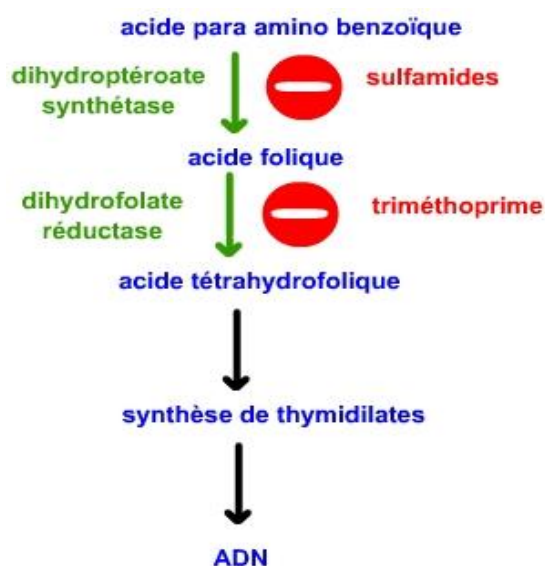


Figure-38- Les sulfamidés exercent une activité uniquement bactériostatique; la combinaison avec les diaminopyridines est synergique.

Bibliographie

1. Adam F. Drouillard I. -2003- Sulfamides et associations. Encycl Méd Chir. Maladies infectieuses, 8-004-A-10, 2003 :9p.
2. Auckenthaler R. Activité antibactérienne. Spectre. Mode d'action. Cibles bactériennes In : Antibiothérapie en pratique clinique.
3. Bergogne-Berezin E., Dellamonica -1995- P. Masson :P17-32 3.
4. Bryskier A. -1999-Fluoroquinolones (II).Usage en thérapeutique et tolérance. Encycl Méd Chir, Maladies infectieuses, 8-004-B-11, :14 p.
5. Cattoir V. -2006- Chloramphénicol, fosfomycine, acide fusidique et polymyxines. In : ANTIBIOGRAMME COURVALAIN.P, LECLERCQ.R, BINGEN.E 2^{ème}édition, :P349-364
6. Francis.J, Chomarat M, Weber.M, Gerard.A -2003- De l'antibiogramme à la prescription. BIOMERIEUX, 2^{ème} édition, p8-p22
7. Goldstein F. -2006- Sulfamides et triméthoprim In : ANTIBIOGRAMME COURVALAIN.P, LECLERCQ.R, BINGEN.E 2^{ème} édition, : P341-348
8. Leclercq. R -2006- Macrolides-lincosamides-streptogramines In :ANTIBIOGRAMME COURVALAIN P., LECLERCQ R., BINGEN E. 2^{ème} édition, P299-324
9. LE Minor L., Veron M. -1989- Bactériologie Médicale, Flammarion :1107 p.
10. Poyart C. -2006- Tétracyclines. In :ANTIBIOGRAMME COURVALAIN.P, LECLERCQ.R, BINGEN.E 2^{ème} édition, P325-334
11. Rabaud C et May T. -2000- Acide fusidique. Encycl Méd Chir, Maladies infectieuses, 8-004-J-20, : 3 p.
12. Rabaud C et May T. -2007- Glycopeptides. Encycl Méd Chir, Maladies infectieuses, 8-004-L-10, p.2001, n°91 : p5-13
13. WebographieE. www.bacteriologie.net
14. Van Bambeke F., Tulkens P.Glupczynski Y. Mingeot-Leclercq M.P.-Sonveaux - 207-2008E. Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse. Syllabusnational belge de pharmacologie (coord.: Prof. A. Herchuelz [ULB]).
https://www.farm.ucl.ac.be/FARM2129/20_08-2009/Vanbambeke/antiinfantibiotiques-antifongiques-19-01-08.pdf

Les quinolones : Point sur les résistances plasmidiques



I. Kourar, A. Kassah-Laouar.
LCBM-CLCC-Batna
Mail : imenekourar@gmail.com.

Microbiologie clinique

Résumé

Pendant longtemps, le seul support connu de résistance aux quinolones était de type chromosomique, jusqu'à la description du gène *qnrA*. Les différents déterminants de résistance plasmidique aux quinolones (PMQR) se distinguent selon leur finalité : protection des cibles par *Qnr*, inactivation enzymatique par *AAC(6')-Ib-cr* et augmentation de l'efflux par *QepA*, *OqxAB*, *Qac BIII*. Leurs différents mécanismes d'action ainsi que leur rôle ne sont pas complètement élucidés. Les niveaux de résistances conférés par les différents PMQR sont de bas niveau ce qui a conduit à conseiller l'utilisation des fluoroquinolones avec précaution même lorsque les souches présentent un bas niveau de résistance résultant d'un PMQR.

Mots clés : Résistance plasmidique aux quinolones ; *qnr* ; *aac(6')-Ib-cr* ; *qepA*

1- Introduction

Les quinolones sont des antibiotiques obtenus par synthèse chimique qui dérivent de la quinoléine. Si les molécules les plus anciennes n'étaient utilisées que dans les infections urinaires basses car actives uniquement sur les germes Gram négatif, les composés plus récents présentent une activité élargie vers les Gram positif et les anaérobies, ce qui les rend irremplaçables dans de graves infections. Pour autant, leur emploi doit être réservé aux situations sans alternative afin de ne pas favoriser le développement de résistances.

Pendant longtemps, le seul support connu de résistance était de type chromosomique, jusqu'à la découverte en 1998 du gène *qnrA* (nommé par la suite *qnrAI*) porté par une souche de *Klebsiellapneumoniae* isolée en 1994 aux États-Unis [1]. Les mécanismes de résistances plasmidiques aux quinolones (PMQR) sont les protéines *Qnr*, l'enzyme *AAC(60)-Ib-cr* et différentes pompes d'efflux. Ils ont été décrits relativement par rapport à l'utilisation des quinolones en thérapeutique. Les niveaux de résistances conférés par les différents PMQR sont de bas niveau. La concentration minimale inhibitrice (CMI) de la ciprofloxacine est généralement augmentée d'un facteur 4 à 60 pour une souche portant un tel mécanisme de résistance, mais elle reste en dessous de la concentration critique la catégorisant sensible à l'action de

Summary

For many years, quinolone resistances was only known as a chromosomal resistance until the *qnrA* gene description. Plasmid-mediated quinolone resistances (PMQR) can be classified according to their function: protection of the Gyrase by *Qnr*, drug inactivation by *AAC(6')-Ib-cr* and increased efflux by *QepA*, *OqxAB*, *QacBIII*. Their role and mechanistic are not totally deciphered. PMQR confers low-level resistance and fluoroquinolone MICs remain below the susceptibility breakpoints.. These findings could lead to propose to use carefully fluoroquinolones to treat infection due to a strain harbouring PMQR.

Keywords: Plasmid-mediated quinolone resistance; *qnr*; *aac(6)-Ib-cr*; *qepA*.

l'antibiotique. Cela implique le recours à une détection moléculaire, et pose la question de la diminution de la réponse au traitement par quinolone.

2- Rappels utiles

2.1- Mode d'action des quinolones

Les quinolones inhibent la réplication et la transcription en inhibant le fonctionnement des deux enzymes bactériennes topoisomérases: l'ADN gyrase et la topoisomérase IV. L'ADN gyrase est composée des sous-unités *GyrA* et *GyrB* et la topoisomérase IV des sous-unités *ParC* et *ParE*. Les quinolones se fixent sur le complexe ADN-topoisomérase. Ce complexe irréversible conduit, d'une part à l'immobilisation des enzymes qui entraîne la bactériostase et d'autre part à des cassures double brin de l'ADN activant le système SOS et produisant un effet « poison » responsable de la bactéricidie intense des fluoroquinolones.

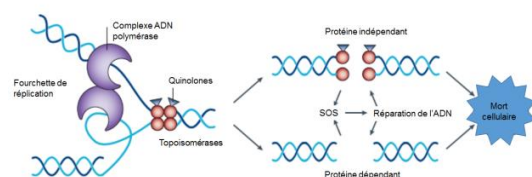


Figure-1- Mode d'action des quinolones

2.2- Mécanismes de résistance aux quinolones

L'acquisition de la résistance bactérienne aux quinolones est un phénomène qui se fait par étapes, avec l'accumulation progressive de mécanismes de résistance « en marches d'escalier », favorisée surtout par leurs prescriptions répétées. Les mécanismes de résistance les plus fréquemment retrouvés et les plus anciens sont les mutations ponctuelles chromosomiques dans les cibles de l'antibiotique, la gyrase (codée par les gènes *gyrA* et *gyrB*) et la topo-isomérase IV (gène *parC*), suivies par les mécanismes liés à une diminution de perméabilité de la bactérie et à un efflux actif. Le second mécanisme de résistance classique aux FQ est un mécanisme d'efflux avec la régulation positive des pompes à efflux natives. Plusieurs mutations doivent s'additionner pour entraîner une résistance de haut niveau et avoir un effet clinique. Plus récemment ont été découverts des mécanismes de résistance plasmidiques conférant des bas niveaux de résistance et transférables horizontalement entre les souches bactériennes. Le premier plasmide découvert code pour une protéine appelée quinolone résistance (Qnr) et « protège » l'ADN gyrase de l'activité des quinolones. Ces protéines confèrent une résistance de bas niveau et donc, ces souches restent sensibles aux FQ d'après les critères officiels de l'European Commite on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, mars 2009) malgré des CMI multipliées parfois par 30 [2]. Le gène *qnr* se propage de façon mondiale avec une prévalence variant de 0,2 à 8 % chez les entérobactéries [3]. Enfin, très récemment il a été montré que des mutations survenant dans certaines enzymes bactériennes primitivement capables de modifier la sensibilité aux aminosides en élargissaient le spectre d'activité vers certaines FQ, diminuant ainsi la sensibilité à la ciprofloxacine [4]. L'accumulation de différents mécanismes de résistance et/ou gènes plasmidiques conduit à une souche de sensibilité intermédiaire ou résistante. Cependant, l'existence de premiers niveaux de résistance doit être recherchée, soit par la mesure des CMI, soit par la détection d'une résistance à l'acide nalidixique pour les entérobactéries ou d'une résistance à la norfloxacine pour les pneumocoques, afin d'avertir le clinicien du risque de bactéricidie diminuée.

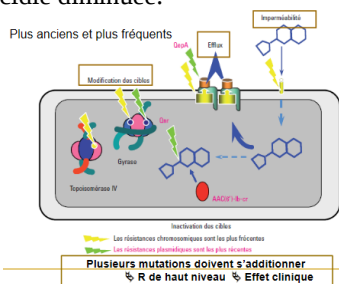


Figure 2- Mécanismes de résistance chromosomiques aux quinolones

3- Les résistances plasmidiques aux quinolones

3.1- Protection de la cible des quinolones par les protéines Qnr :

Depuis la première description de *qnrA1* [1,2], de nombreux autres gènes *qnr* (quinolone résistance) ont été décrits, définissant les familles *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC* et *qnrD* [3-6]. Les progéniteurs des familles *qnrA*, *qnrB* et *qnrS* ont été respectivement identifiés comme étant les *Schewanella spp* [7], *Citrobacter spp* [8] et les *Vibrionaceae* [9-11]. Compte tenu de l'habitat environnemental des *Schewanella spp* et *Vibrionaceae* et de nombreuses descriptions de *qnr* à partir de bactéries isolées d'un environnement hydrique, en particulier *Aeromonas spp*, le réservoir environnemental des gènes *qnr* semble important [10,12].

Tableau 1- principales caractéristiques des PMQR[5]

Mécanisme d'action	PMQR	Progéniteurs	Augmentation CMI CIP	Plasmides	Environnements génétiques*	Bactéries
Protection	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i>	<i>Schewanella spp.</i> <i>Citrobacter spp.</i>	4-40 x	Grands plasmides conjuguatifs	VRI des Intégrons/composés de classe I (SCX1, SCX2) (A/Rex1)	Entérobactéries, <i>Aeromonas</i> spp.
	<i>qnrC</i> <i>qnrD</i>	—	—	Petits plasmides non conjuguatifs	—	—
	<i>qnrS</i>	<i>Vibrionaceae</i>	—	—	SCX12, SCX4, TnJ	—
Inactivation	<i>aacB2</i> / <i>gyr</i>	—	4 x	Grands plasmides conjuguatifs	VRI des Intégrons/composés de classe I	Entérobactéries
Efflux	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i>	<i>Actinomyces</i>	10 x 10 x	Grands plasmides conjuguatifs	SCX3	Entérobactéries*
	<i>qnrB3</i>	—	4 x	Plasmides de la famille <i>gyrA</i>	SCX5*	SAR
	<i>pQNR1</i>	—	—	—	—	—

SAR : *Staphylococcus aureus* méthicilline-résistant ; CMI : concentration minimale inhibitrice ; CIP : ciprofloxacine.

* Environnements génétiques majoritairement décrits.

† Souches essentiellement d'origine vétérinaire.

‡ Une seule description de ce plasmide.

3.1.1- Structure des protéines Qnr

Les protéines Qnr appartiennent à la famille des protéines à motifs pentapeptidiques répétés (PRP) qui sont des protéines constituées de séries de répétition en tandem de cinq acides aminés [13]. Les structures des protéines Qnr n'ont pas toutes été étudiées par cristallographie. Néanmoins, l'étude cristallographique de QnrB1 a montré que cette protéine était constituée de deux monomères en b-hélice quadrilatère droite démerités par leur extrémité C-terminale au niveau de la glycine [14]. La séquence peptidique de la boucle B est très conservée parmi les différentes familles Qnr. D'un point de vue fonctionnel, la suppression de la boucle A diminue l'effet protecteur de l'ADN gyrase par QnrB1 vis-à-vis des quinolones, tandis que la suppression de la boucle B l'annule complètement [14].

3.3- Rôle des protéines Qnr

Le rôle des Qnr dans le métabolisme bactérien reste pour le moment inconnu. Leur possible action inhibitrice des poisons naturels des topo-isomérases a été d'abord évoquée. En effet, les PRP McbG et AlbG empêchent l'activité inhibitrice de l'ADN gyrase, respectivement de la microcine B17 chez *E. coli* [15-17] et de l'albicidine chez *Xanthomonas albilinea* [18]. Néanmoins Le poison « naturel » contre lequel les Qnr protégeraient l'ADN gyrase n'est pas connu à ce jour. De plus, les Qnr pourraient jouer un rôle non encore élucidé dans le métabolisme bactérien, compte tenu de l'effet de la

PRP MfpAMT qui pourrait avoir un effet de régulation de l'ADN gyrase chez *Mycobacterium tuberculosis* [16,19]. En amont du gène *qnrB*, une séquence a été identifiée comme site de fixation de la protéine LexA impliquée dans la réponse SOS des bactéries lors d'un stress [20]. L'expression du gène *qnrB*, sous contrôle du système SOS, participerait donc à l'évolution de la résistance des bactéries aux antibiotiques.

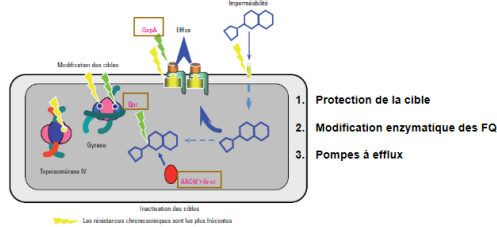


Figure 3- Mécanismes de résistance plasmidique aux quinolones

3.1.2- Mode d'action des protéines Qnr

La structure des Qnr, très proche de la structure de la double hélice d'ADN, a conduit à évoquer un mode d'action des Qnr par « mimétisme de l'ADN » au niveau du site actif de l'ADN gyrase. Les quinolones se fixant au complexe ADN-ADN gyrase, la protéine Qnr en se fixant à l'ADN gyrase empêcherait la formation du complexe sur lequel se fixent les quinolones. Ce mode d'action est toujours très discuté. En effet, QnrB4 et MfpAMT présentent des effets opposés sur l'ADN gyrase. MfpAMT inhibe l'activité de l'ADN gyrase mais n'empêche pas l'inhibition par les quinolones. À l'opposé, QnrB4 inhibe l'action des quinolones à faible concentration et inhibe l'ADN gyrase à très forte concentration [19]. L'étude cristallographique d'AhQnr, une protéine Qnr chromosomique produite par *Aeromonas hydrophila* [21] a proposé que les boucles, en se fixant à la sous-unité GyrA59 (boucle A) et au domaine TOPRIM de GyrB (boucle B), permettraient la fixation des protéines Qnr préférentiellement lorsque la conformation du complexe ADN-ADN gyrase et quinolones expose ces deux domaines. Cela expliquerait pourquoi les Qnr ont une fixation plus faible sur l'ADN gyrase seule. Ce n'est qu'à haute concentration que les protéines Qnr inhiberaient l'ADN gyrase [14].

3.1.3-Supports génétiques des gènes qnr

Les gènes *qnr* sont majoritairement associés à des structures de mobilisation de gènes, comme par exemple ISCR1 et *qnrA* dans les intégrons complexes de type 1 [22] ou *IS Ecp1* et *qnrB* [23,24]. Dans l'environnement génétique de *qnrA*, *qnrB* et *qnrS* sont souvent retrouvés de gènes codant des bêta-lactamases et notamment des bêta-lactamases à spectre étendu [25]. Les gènes *qnrA*, *qnrB* et *qnrC* sont majoritairement portés par de grands plasmides conjugatifs, tandis que *qnrS* et *qnrD* sont plus souvent portés par de petits plasmides non conjugatifs voire non mobilisables [26].

3.2- Efflux plasmidique des quinolones

Plusieurs pompes d'efflux plasmidiques ont été décrites et majoritairement sur des plasmides portés par des souches d'origine vétérinaire.

3.2.1-La pompe d'efflux QepA

Le gène *qepA* a été décrit à partir d'une souche clinique d'*Escherichia coli* isolée en Belgique en 2007 [27] et code une pompe d'efflux appartenant aux MFS (Major Facilitator Superfamily). Sa présence a pour conséquence une moindre sensibilité aux quinolones hydrophiles, avec une augmentation des CMI de l'ordre d'un facteur 10. Le progéniteur de ce gène semblerait appartenir à la famille des actinomycètes car le gène *qepA1* présente un (G + C) % (72 %) proche de celui des actinomycètes. Un variant allélique codant une pompe d'efflux ayant les mêmes effets a été décrit ensuite et nommé *qepA2* [28]. Ces deux variants du gène *qep* sont tous les deux situés en amont d'une séquence d'insertion ISCR3. En Asie, où le gène *qepA1* est très souvent rapporté, ce dernier est très communément associé au gène *rmtB* codant une méthylase de l'ARN 16S conférant une résistance aux aminosides [29].

3.2.2- La pompe d'efflux OqxAB

Une autre pompe d'efflux, OqxAB, de la famille des RND (resistance nodulation division) a été décrite chez une souche d'*Escherichia coli* isolée chez un cochon. OqxAB confère une résistance à l'olaquinox, un dérivé quinoléique, très utilisé en médecine vétérinaire. Exprimée dans une souche d'*E.coli* dépourvue du gène *acrA*, OqxAB confère une augmentation de la CMI de l'acide nalidixique et de la ciprofloxacine, respectivement d'un facteur 8 et 16 [30].

3.2.2- La pompe d'efflux QacBIII

La pompe d'efflux QacB appartient à la famille MFS comme QepA. Cette pompe est souvent retrouvée dans des souches de *Staphylococcus aureus* méticillino-résistant (SAMR) et permet l'extrusion des cations monovalents, comme les ammoniums quaternaires, et les cations divalents, comme la chlorhexidine. Trois variants, *qacBI*, *qacBII* et *qacBIII* ont été décrits en se basant sur les séquences nucléotidiques. Le variant QacBIII est impliqué dans la résistance de bas niveau des SAMR à la ciprofloxacine et à la norfloxacine [32].

3.3-Inactivation enzymatique des quinolones par AAC(6')-Ib-cr

Le mécanisme de résistance par inactivation des quinolones n'existait pas, avant la description du gène *aac(6')-Ib-cr*, qui code une aminoside 6-N-acétyltransférase plasmidique bi-fonctionnelle, capable d'acétyler à la fois les aminosides, la ciprofloxacine et la norfloxacine au niveau du groupement amine secondaire du cycle piperazinyl [33]. Le gène *aac(6')-Ib-cr* est un variant du classique gène *acc(6)-Ib* conférant une résistance à certains aminosides (kanamycine,

amikacine, tobramycine, nétilmicine et isépanamine), dont l'enzyme ainsi codée porte deux mutations indispensables : Trp102Arg et Asp179Tyr.

3.3.1-Structure et mode d'action d'AAC(6')-Ib-cr

Aucune cristallographie de l'enzyme AAC(6')-Ib-cr n'a pu être réalisée. Néanmoins, l'étude cristallographique de l'enzyme AAC(6)-Ib a permis de mettre en évidence une structure comparable à celle observée pour les N-acétyltransférases de la famille des GNAT (N-acetyltransférases de type GCN5) [34] et de proposer des modèles pour AAC(6')-Ib-cr. Deux modèles ont été proposés pour expliquer le mode d'action de l'enzyme AAC(6')-Ib-cr, qui diffèrent par le positionnement de la molécule de fluoroquinolone et le type d'interactions de cette molécule avec les acides aminés du site actif [35,36]. Pourtant dans les deux cas, la mutation Asp179Tyr serait responsable de l'augmentation d'affinité de l'AAC(6')-Ib-cr pour les fluoroquinolones, en permettant aux hétérocycles de la norfloxacin et de la ciprofloxacine de se positionner dans la poche du site actif. La mutation Trp102Arg permettrait la stabilisation des interactions entre les molécules de fluoroquinolones et la tyrosine en position 179.

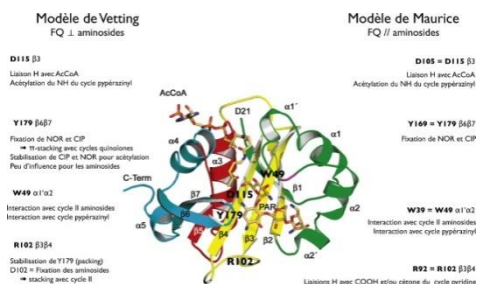
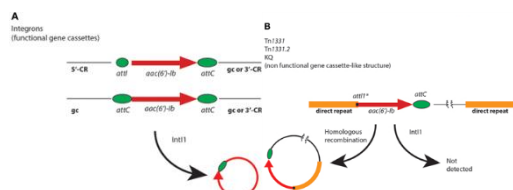


Figure 4- Modèles du mode d'action de l'enzyme AAC(6')-Ib-cr [36]

3.3.2-Support génétique du gène aac(6')-Ib-cr

Deux environnements génétiques sont classiquement décrits : l'association avec la séquence d'insertion IS26 comme décrit sur le plasmide pC15a [37] et la localisation, majoritairement en aval du gène intI et borné par blaOXA-1 et catB3, dans la région variable VR1 des intégrons complexes de type 1 [38].



Mobilisation de aac(6')-Ib. (A) Cartes génétiques génériques d'intégrons dans lesquelles une cassette de gène aac(6')-Ib est située immédiatement après la région conservée 5' (5'-CR) (carte du haut) ou après une ou plusieurs cassettes de gènes (gc) à l'intérieur la partie variable, et suivie par d'autres cassettes de gènes ou la région 3' conservée (3'-CR) (carte du bas). La petite ellipse verte représente attL et les grandes ellipses vertes représentent attC. (B) Partie pertinente des

éléments Tn1331, Tn1331.2 et KQ (Tolmasky et Crosa, 1987; Tolmasky et al., 1988; Sarno et al., 2002; Rice et al., 2008). Pour plus de clarté, Tn1332, qui a une structure plus compliquée dans ses répétitions directes (Poirel et al., 2006), n'est pas montré, mais il pourrait subir une mobilisation par recombinaison homologue comme indiqué. Le point noir représente attI*. La voie de recombinaison homologue pour la génération d'une molécule circulaire contenant aac(6')-Ib a été proposée par Zong et al. (2009)[39]

4- Impact clinique des PMQR

L'impact clinique des PMQR est un sujet de controverse parmi la communauté scientifique. En effet, le bas niveau de résistance dû aux PMQR pose la question de l'effet, non seulement sur la facilitation d'un plus haut niveau de résistance, mais aussi sur la diminution de l'efficacité thérapeutique des quinolones. Martinez-Martinez et al, ont proposé que la protéine Qnr facilite l'acquisition de mutation chromosomique. Ces auteurs ont rapporté que la fréquence d'obtention de mutants résistants était 100 fois plus importante à partir d'une souche d'*E.coli* productrice de QnrA1, que d'une souche *E. coli* sauvage. Cesaro et al [40] ont rapporté que l'expression de Qnr n'augmentait pas la sélection de souches résistantes aux quinolones, mais les mécanismes de résistance s'additionnant, la concentration prévenant l'apparition de mutants (CPM) serait alors plus élevée. Le risque d'échec thérapeutique lié à l'infection par une souche porteuse d'un PMQR a été évalué principalement par les modèles animaux expérimentaux. Ces études ont mesuré la densité bactérienne, dans les organes concernés, de souches sauvages et de souches exprimant une protéine Qnr. Dans les trois cas, les auteurs concluaient à une diminution de la bactéricidie de la ciprofloxacine pour traiter les infections dues à une souche porteuse d'un gène qnr dans des modèles animaux d'infection urinaire et d'infection respiratoire [41-43]. Bien que des études complémentaires portant sur les autres PMQR, comme par exemple aac(6')-Ib-cr, soient nécessaires, ces observations confrontées aux données cliniques pourraient conduire à conseiller l'utilisation des fluoroquinolones avec précaution même lorsque les souches présentent un bas niveau de résistance résultant d'un PMQR [44].

5- Conclusion

La découverte des PMQR a remis en question le dogme dictant que la résistance bactérienne à un antibiotique synthétique ne pouvait résulter que de mutations chromosomiques et non de transferts génétiques horizontaux. En moins de 20 ans, un grand nombre d'études a permis de décrire différents PMQR, mais leurs rôles et modes d'action ne sont pas encore complètement élucidés. Les niveaux de résistance occasionnés par les PMQR sont bas, mais la pression de sélection des antibiotiques tant en médecine humaine, vétérinaire que dans l'environnement favorise ces mécanismes nouvellement émergés. L'impact clinique démontré pour Qnr ne doit donc pas conduire à les sous-estimer.

Bibliographie

1. **Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA.**1998. Quinolone resistance from a transferable plasmid. . *Lancet*;351: 797-799.
2. **Cambau E, Guillard T.**2012. Antimicrobials that affect the synthesis and conformation of nucleic acids. *Rev Sci Tech*;31: 77-87.
3. **Kreuzer KN, Cozzarelli NR.** 1979. Escherichia coli mutants thermosensitive for deoxyribonucleic acid gyrase subunit A: effects on deoxyribonucleic acid replication, transcription, and bacteriophage growth. *J Bacteriol*;140: 424-35.
4. **Cavaco LM, Hasman H, Xia S, Aarestrup FM.**2009. qnrD, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in Salmonella enterica serovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin. *Antimicrob Agents Chemother*; 53: 603-8.
5. **Wang M, Guo Q, Xu X, Wang X, Ye X, Wu S, et al.**2009. New plasmidmediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother*;53: 1892-1897.
6. **Jacoby G, Cattoir V, Hooper D, Martínez-Martínez L, Nordmann P, Pascual A, et al.**2008. qnr Gene nomenclature. *Antimicrob Agents Chemother*;52: 2297-2299.
7. **Poirel L, Rodriguez-Martinez J-M, Mammeri H, Liard A, Nordmann P.** 2008. Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrA. *Antimicrob Agents Chemother*;49: 3523-3525.
8. **Jacoby GA, Griffin CM, Hooper DC.**2011. Citrobacter spp. as a source of qnrB alleles. *Antimicrob Agents Chemother*;55: 4979-84.
9. **Poirel L, Liard A, Rodriguez-Martinez J-M, Nordmann P.**2005. Vibrionaceae as a possible source of Qnr-like quinolone resistance determinants. *J Antimicrob Chemother*;56(6):1118-21.
10. **Cattoir V, Poirel L, Mazel D, Soussy C-J, Nordmann P.**2007. Vibrio splendidus as the source of plasmid-mediated QnrS-like quinolone resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother*;51: 2650-1.
11. **Saga T, Kaku M, Onodera Y, Yamachika S, Sato K, Takase H.**2005. Vibrio parahaemolyticus chromosomal qnr homologue VPA0095: demonstration by transformation with a mutated gene of its potential to reduce quinolone susceptibility in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*;49: 2144-5.
12. **Cattoir V, Poirel L, Aubert C, Soussy C-J, Nordmann P.** 2008. Unexpected occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in environmental Aeromonas spp. *Emerging Infect Dis*;14: 231-7.
13. **Vetting MW, Hegde SS, Fajardo JE, Fiser A, Roderick SL, Takiff HE, et al.** 2006. Pentapeptide repeat proteins. *Biochemistry*; 45:1-10.
14. **Vetting MW, Hegde SS, Wang M, Jacoby GA, Hooper DC, Blanchard JS.** 2011. Structure of QnrB1, a plasmid-mediated fluoroquinolone resistance factor. *J Biol Chem*;286: 265-73.

15. **Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A.** 2009. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin Microbiol Rev*;22: 664-89.
16. **Heddle JG, Blance SJ, Zamble DB, Hollfelder F, Miller DA, Wentzell LM, et al.** 2001. The antibiotic microcin B17 is a DNA 294 gyrase poison: characterisation of the mode of inhibition. *J Mol Biol*;307: 223-34.
17. **Hooper DC.** 2001. Mechanisms of action of antimicrobials: focus on fluoroquinolones. *Clin Infect Dis*;32: 9-15.
18. **Hashimi SM, Wall MK, Smith AB, Maxwell A, Birch RG.** 2007. The phytotoxin albicidin is a novel inhibitor of DNA gyrase. *Antimicrob Agents Chemother*;51:181-7.
19. **Mérens A, Matrat S, Aubry A, Lascols C, Jarlier V, Soussy C-J, et al.** 2009. The pentapeptide repeat proteins MfpAMt and QnrB4 exhibit opposite effects on DNA gyrase catalytic reactions and on the ternary gyrase-DNA-quinolone complex. *J Bacteriol*;191: 1587-94.
20. **Da Re S, Garnier F, Guérin E, Campoy S, Denis F, Ploy M-C.** 2009. The SOS response promotes qnrB quinolone-resistance determinant expression. *EMBO Rep*;10(8):929-33.
21. **Xiong X, Bromley EHC, Oelschlaeger P, Woolfson DN, Spencer J.** 2011. Structural insights into quinolone antibiotic resistance mediated by pentapeptide repeat proteins: conserved surface loops direct the activity of a Qnr protein from a Gram negative bacterium. *Nucleic Acids Res*;39(9):3917-27.
22. **Poole K.** 2007. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. *Ann Med*;39(3):162—76.
23. **Cattoir V, Nordmann P, Silva-Sanchez J, Espinal P, Poirel L.** 2008. ISEcp1-mediated transposition of qnrB-like gene in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*;52: 2929-32.
24. **Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM, Walker VJ, Oh H, Robicsek A, et al.** 2006. qnrB, another plasmid-mediated gene 315 for quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother*;50: 1178-82.
25. **Guillard T, Cambau E, Neuwirth C, Nenninger T, Mbadi A, Brasme L, et al.** 2012. Description of a 2,683-bp plasmid containing qnrD in two *Providencia rettgeri* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*;56: 565-8.
26. **Kehrenberg C, Hopkins KL, Threlfall EJ, Schwarz S.** 2007. Complete nucleotide sequence of a small qnrS1-carrying plasmid from *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Typhimurium DT193. *J Antimicrob Chemother*;60: 903-5.
27. **Périchon B, Courvalin P, Galimand M.** 2007. Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*;51: 2464-9.
28. **Cattoir V, Poirel L, Nordmann P.** 2008. Plasmid-mediated quinolone resistance pump QepA2 in an *Escherichia coli* isolate from France. *Antimicrob Agents Chemother*;52: 3801-4.
29. **Xia L-N, Tao X-Q, Shen J-Z, Dai L, Wang Y, Chen X, et al.** 2011. A Survey of β -lactamase and 16S rRNA methylase

- genes among fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* isolates and their horizontal transmission in shandong, China. *Foodborne Pathog Dis*;8:1241-8.
30. **Hansen LH, Jensen LB, Sørensen HI, Sørensen SJ.** 2007. Substrate specificity of the OqxAB multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria. *J Antimicrob Chemother*;60:145-7.
 31. **Szczepanowski R, Krahn I, Linke B, Goesmann A, Pühler A, Schlüter A.** 2004. Antibiotic multiresistance plasmid pRSB101 isolated from a wastewater treatment plant is related to plasmids residing in phytopathogenic bacteria and carries eight different resistance determinants including a multidrug transport system. *Microbiology*;150: 3613-30.
 32. **Nakaminami H, Noguchi N, Sasatsu M.** 2010. Fluoroquinolone efflux by the plasmid339 mediated multidrug efflux pump QacB variant QacBIII in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*;54: 4107-11.
 33. **Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, Macielag M, Abbanat D, Park CH, et al.** 2006. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyl transferase;12: 83-8.
 34. **Vetting MW, de Carvalho S, Yu LP, Hegde M, Magnet SS, Roderick SL, et al.** 2005. Structure and functions of the GNAT superfamily of acetyltransferases. *Arch Biochem Biophys*;433: 212-26.
 35. **Maurice F, Broutin I, Podglajen I, Benas P, Collatz E, Dardel F.** 2008. Enzyme structural plasticity and the emergence of broad-spectrum antibiotic resistance;9: 344-9.
 36. **Vetting MW, Park CH, Hegde SS, Jacoby GA, Hooper DC, Blanchard JS.** 2008. Mechanistic and structural analysis of aminoglycoside N-acetyltransferase AAC(6')-Ib and its bifunctional, fluoroquinolone-active AAC(6')-Ib-cr variant. *Biochemistry*;47: 9825-35.
 37. **Boyd DA, Tyler S, Christianson S, McGeer A, Muller MP, Willey BM, et al.** 2004. Complete nucleotide sequence of a 92-kilobase plasmid harboring the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase involved in an outbreak in long-term-care facilities in Toronto Canada. *Antimicrob Agents Chemother*;48: 3758-64.
 38. **Quiroga MP, Andres P, Petroni A, Soler Bistué AJC, Guerriero L, Vargas LJ, et al.** 2007. Complex class 1 integrons with diverse variable regions, including aac(6')-Ib361-cr, and a novel allele, qnrB10, associated with ISCR1 in clinical enterobacterial isolates from Argentina. *Antimicrob Agents Chemother*;51: 4466-70.
 39. **Ramirez M.S., Nikolaidis N. and Tolmasky M.E.** 2013. Rise and dissemination of aminoglycoside resistance: the aac(6')-Ib paradigm. *frontiers in Microbiology*; p1-13; Volume4|Article121
 40. **Cesaro A, Roth Dit Bettoni R, Lascols C, Mérens A, Soussy CJ, Cambau E.** 2008. Low selection of topoisomerase mutants from strains of *Escherichia coli* harbouring plasmid-borne qnr genes. *J Antimicrob Chemother*;61:1007-15.
 41. **Allou N, Cambau E, Massias L, Chau F, Fantin B.** 2009. Impact of lowlevel

resistance to fluoroquinolones due to qnrA1 and qnrS1 genes or a gyrA mutation on ciprofloxacin bactericidal activity in a murine model of *Escherichia coli* urinary tract infection. *Antimicrob Agents Chemother*;53: 4292-7.

42. **Rodríguez-Martínez JM, Pichardo C, García I, Pachón-Ibañez ME, Docobo-Pérez F, Pascual A, et al.** 2008. Activity of ciprofloxacin and levofloxacin in experimental pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* deficient in porins, expressing active efflux and producing QnrA1. *Clin Microbiol Infect*;14: 691-7.
43. **Jakobsen L, Cattoir V, Jensen KS, Hammerum AM, Nordmann P, Frimodt-Møller N.** 2012. Impact of low-

level fluoroquinolone resistance genes qnrA1, qnrB19 and qnrS1 on ciprofloxacin treatment of isogenic *Escherichia coli* strains in a murine urinary tract infection model. *J Antimicrob Chemother*;67: 2438-44.

44. **Casin I, Bordon F, Bertin P, Coutrot A, Podglajen I, Brasseur R, et al.** 1998. Aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase variants 381 of the Ib type with altered substrate profile in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii*. *Antimicrob Agents Chemother*;42: 209-15.

Les sites de l'activité anesthésique dans l'Est algérien, un audit d'évaluation



Article Original
Anesthésie-Réanimation

M Lahmar¹, M.Aroussi¹, O.Guerza²

1. Service d'anesthésie-réanimation-CLCC de Batna (Algérie)

2. Service d'anesthésie-réanimation-CHU de Batna (Algérie)

Mail : mouradlahmar.clcc@gmail.com

R E S U M E

Introduction et objectifs

Un site d'anesthésie est un lieu où un patient bénéficie d'un acte anesthésique. Nous avons procédé à une enquête qui a pour objectif principal de faire un état des lieux des sites de la pratique d'un acte anesthésique programmé dans les structures hospitalières de l'Est algérien.

Méthodes

Enquête transversale, multicentrique, qui s'est déroulée dans les établissements hospitaliers de l'Est algérien dotés de blocs opératoires. L'enquête a été réalisée de Mai 2015 à Février 2016. Étaient inclus toutes les structures hospitalières dotées de bloc opératoire, ont été exclus les structures hospitalières privées. Des paramètres qualitatifs et quantitatifs ont été étudiés. L'analyse des données a été effectuée par un logiciel SPSS.

Résultats

57 établissements hospitaliers ayant participé à l'enquête soit 83,82%. Les services d'anesthésie réanimation sont absents dans 70,2% des structures hospitalières. Nous avons recensé 105 blocs opératoires, soit 01 bloc opératoire pour 124068 ,32 habitants. Pour le monitoring de la curarisation est présent dans 3,50%. Seuls 18 structures sont dotées d'un matériel spécifique à la prise en charge anesthésique de l'enfant.

Conclusion

Le présent travail constitue une étape pour l'instauration de la culture d'évaluation dans le domaine médical, en général, et dans le domaine d'anesthésie réanimation en particulier. L'analyse critique concernant les sites de la pratique d'anesthésie, ainsi que le lieu de l'exercice ne doit pas influencer sur le métier d'anesthésiste-réanimateur et sur le niveau de sécurité des sites.

Mots clés : site d'anesthésie, bloc opératoire, salle de réveil, réanimation chirurgicale.

1. Introduction

Un site d'anesthésie (SA) est un lieu où un patient bénéficie d'un acte anesthésique, effectué sous la responsabilité d'un médecin anesthésiste réanimateur. Sont considérés comme sites d'anesthésie : le bloc opératoire et tout autre lieu où sont pratiqués les actes d'anesthésie ou de sédation (radiologie, endoscopie, salle de réveil) [1]. Tandis que

ABSTRACT

Introduction and objectives

An anesthesia site is a place where a patient undergoes an anesthetic act. We carried out a survey the main objective of which was to make an inventory of the sites of the practice of a programmed anesthetic act in the hospital structures of eastern Algeria.

Methods

Cross-sectional, multicenter survey, which took place in hospitals in eastern Algeria with operating theaters. The survey was carried out from May 2015 to February 2016. Included were all hospital structures with operating theaters, private hospital structures were excluded. Qualitative and quantitative parameters were studied. Data analysis was performed by SPSS software.

Results

57 hospitals that participated in the survey, or 83.82%. Resuscitation anesthesia services are absent in 70.2% of hospital structures. We identified 105 operating theaters, i.e. 01 operating theaters for 124,068, 32 inhabitants. For the monitoring of curarization is present in 3.50%. Only 18 structures are equipped with specific equipment for the anesthetic management of the child.

Conclusion

This work is a step towards establishing the culture of evaluation in the medical field in general, and in the field of anesthesia resuscitation in particular. The critical analysis concerning the sites of anesthesia practice, as well as the place of the exercise should not influence the job of anesthesiologist and the level of safety of the sites.

Key words : anesthesia site, operating room, recovery room, surgical resuscitation

tout site d'anesthésie comporte un téléphone, ou un interphone et/ou un bouton d'appel d'urgence permettant de communiquer, avec les autres sites, ceci pour ne pas perdre le patient de vue. Les SA devraient y avoir des moyens de suppléance pour l'alimentation électrique, l'alimentation en fluide, la ventilation et l'aspiration. Ils doivent permettre de poursuivre l'anesthésie jusqu'à la fin de

l'intervention. Par ailleurs un SA unique ou un ensemble de sites comporte un lieu de rangement de médicaments et de matériel de première nécessité, auquel l'équipe d'anesthésie - réanimation peut avoir accès sans délai préjudiciable pour le patient [2, 3]. Nous procédés à cette étude multicentrique portée sur les SA aux niveaux des hôpitaux de l'Est algérien dont l'objectif est d'évaluer quantitativement et qualitativement les sites de la pratique anesthésique afin de faire un état des lieux.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Plan de l'étude

Etude descriptive, de type transversal, et multicentrique qui s'est déroulée dans les établissements hospitaliers de l'Est algérien [4]. L'étude s'est effectuée dans les établissements hospitaliers de l'Est Algérien qui sont répartis selon la carte sanitaire [5] : en Centre Hospitalier Universitaire (CHU) : 04 CHU répartis sur 04 wilayas : Batna, Sétif, Constantine, Annaba. Etablissement Hospitalier Spécialisé (EHS) : 10 EHS mère et enfant, 02 EHS fonctionnels type centre anti cancer, 01 EHS cardio-vasculaire à Constantine, 01 EHS uro--néphrologie et transplantation rénale. Et Etablissement Public Hospitalier (EPH) : 51 EPH dotés d'une activité d'anesthésie-réanimation. Les jours donnés choisis dans notre enquête, ont été : le dimanche 10 Mai 2015 ; le lundi 21 Septembre 2015 ; le mardi 20 Octobre 2015 ; le mercredi 23 Décembre 2015 ; le jeudi 11 Février 2016.

2.2. Questionnaire et paramètres étudiés

Des référents sont installés au niveau des différents blocs opératoires pour remplir une fiche technique dont les paramètres à étudiés sont : le taux de participation des établissements hospitaliers (EH) ; types d'EH ; EH selon le nombre des blocs opératoires ; blocs opératoires selon la population EH selon la présence ou non du service d'anesthésie réanimation ; inventaire des structures de santé et des blocs opératoires ; inventaire de matériel du monitoring et de sécurité anesthésique.

2.3. Analyse des données

Les données et l'analyse statistique ont été introduites dans une base de données de MS Access (Microsoft 2002, Redmond, WA, Etats-Unis) et analysées au moyen du kit logiciel SPSS .20 (SPSS Inc, Chicago, IL, Etats-Unis). Les résultats sont exprimés selon les cas en pourcentages, moyennes, médianes, intervalle entre les dixièmes et le quatre-vingt dixièmes percentiles pour les médianes et intervalles de confiance à 95 % (IC) pour les moyennes. Le test utilisé était le test de KHI-

deux dans la mesure de la liaison des paramètres qualitatifs ($P \leq 0,05$).

3. Résultats

Le taux de participation des établissements hospitaliers était de 82,61%, soit 57 établissements/69 établissements possibles, dont 100% des CHU (4/4), 80,39% des EPH (41/51) et 85,71% des EHS (12/14). L'établissement hospitalier doté d'une activité chirurgicale représente : 0,43 établissement pour 100 000 habitants avec un CHU pour 3050087,75 habitants. Un EPH pour 221824,56 habitants. Un EHS pour 938488,538 habitants. Les EPH représentent la majorité des établissements ou sont effectués les actes anesthésiques (Fig.1).

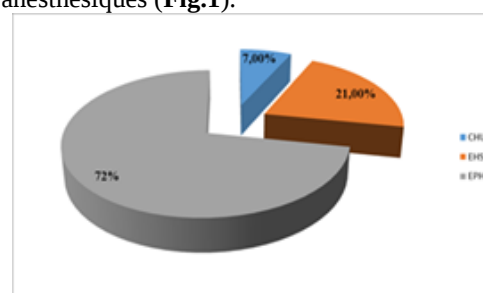


Figure-1- Répartition des structures hospitalières selon le type d'établissement

Dans notre enquête, les structures de santé sont en monobloc dans 71,2%, tandis que 03 CHU sur 04 sont de type pavillonnaire. Dans les structures incluses dans notre étude, seuls 29,8% des établissements ont un service d'anesthésie-réanimation. Par ailleurs, dans les 57 établissements de santé, qui ont répondu à notre enquête, il y a 105 blocs opératoires, dont deux CHU sont dotés de 09 BO. Durant notre enquête et au niveau de l'Est algérien, le ratio bloc fonctionnel par habitants est de 01 bloc opératoire fonctionnel pour 124068,32 habitants.

Tableau I : répartition des salles opératoires selon le type d'établissement

Nombre de Salles Opératoires	Etablissements Hospitaliers			Total
	CHU	EHS	EPH	
1 salle	0	2	0	2
2 salles	0	3	10	13
3 salles	0	3	12	15
4 salles	0	2	7	9
5 salles	0	1	9	10
6 salles	0	0	1	1
7 salles	0	1	2	3
13 salles	1	0	0	1
16 salles	1	0	0	1
24 salles	1	0	0	1
26 salles	1	0	0	1
Total salles opératoires	79	37	149	265

Durant notre enquête, le nombre des salles opératoires était de 265 salles, les 04 CHU de l'Est algérien, ont un nombre de salles

opératoires allant de 13 à 26, tandis que 02 EHS ont une seule salle opératoire (**Tableau I**).

Dans le cadre de la chirurgie programmée et dans notre enquête on a trouvé : une salle opératoire pour 49159,14 habitants. Par ailleurs, la Salle de Surveillance Post Interventionnelle (SSPI) est absente dans plus de 22% de nos structures, tandis que tous les CHU ont des salles de surveillances post-opératoires. L'unité ou service de réanimation chirurgicale sont absents dans 50% de nos structures, étant donnée les réanimations polyvalentes sont comptées (**Tableau II**).

Tableau II : répartition des unités de réanimations selon le type d'établissement hospitalier

Etablissements Hospitaliers	Présence d'une unité de réanimation		Total
	Oui	Non	
CHU	3	1	4
EPH	7	5	12
EHS	18	23	41
Total	28	29	57

Pour l'inventaire de matériel du monitoring et de sécurité anesthésique, On entend par monitoring standard en anesthésie : saturomètre, pression artérielle non invasif (PANI), rythme cardiaque, capnographie. Le monitoring standard est présent dans 100% des structures. Le moniteur de la pression artérielle invasive (PAI) est présent dans 13 structures sur 57 établissements, soit 22,8%.

Pour le moniteur de l'index bi spectral (BIS), il est présent dans 02 établissements sur les 57 structures auditées, L'établissement audité est considéré doté de moniteur du BIS s'il dispose d'un seul appareil.

En matière de monitoring de la curarisation, il est absent dans la quasi- totalité des établissements. Alors que, le matériel d'intubation difficile, est absent dans 43 structures soit dans 76 % des établissements hospitaliers de la région Est. Il est à noter que sur les 57 établissements audités seuls 18 structures sont dotées du matériel spécifique à la prise en charge anesthésique de l'enfant.

4. Discussion

Même si l'hôpital est universel. Les types d'établissements de santé différent d'un pays à un autre, et donc d'un système de santé à un autre. En Algérie et suite au découpage du 19 mai 2007 par le ministère de la santé, de la population, et de la réforme hospitalière algérien, les établissements types CHU, EPH, EHS, EHU sont autorisés à pratiqué une

activité chirurgicale. Cette différence de système de santé entre les différents pays rend la comparaison difficile avec les autres études en matière de type d'établissement.

Dans notre enquête la répartition des établissements dotés d'activités anesthésiques est comme suit : 7 % des CHU, 72% des EPH et 21% d'EHS. Tandis qu'une étude de la société française d'anesthésie réanimation (SFAR) en 2003 a rapporté que 17% des activités anesthésiques sont réalisées au niveau des CHU, et le reste au niveau des autres types d'établissements non universitaires. Cela pourrait être expliqué par le grand nombre de CHU en France par rapport à l'Algérie (55 en France contre 15 en Algérie). En matière de service d'anesthésie réanimation (SAR), 70% de nos établissements n'ont pas de SAR, les médecins anesthésistes réanimateurs exercent sous la coupole d'un service chirurgical. L'enquête française de l'institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) pratiquée en 1978 et 1982 sur l'activité anesthésique en France a permis de recenser 1.276 établissements pratiquant des anesthésies ont des SAR. Cependant on n'a pas trouvé d'études afin de comparer cette proportion qu'on estime très importante et pose un souci organisationnel dans la pratique d'anesthésie. L'absence des SAR rend l'organisation de l'activité anesthésique difficile en absence d'un anesthésiste décideur dans son service et au bloc opératoire. La SSPI est absente dans 23% des établissements, par contre et en France, tous les sites d'anesthésie sont dotés d'une SSPI, elle est réglementée par des circulaires depuis 1974 renforcée par des décrets exécutifs dès le début des années 1990, qui ont insisté sur l'importance des salles de réveil post-anesthésique [6-8]. En dehors des respirateurs d'anesthésie, chaque site anesthésique doit pouvoir disposer des appareils suivants, encore appelé « monitoring standard » [9] : tracé d'électrocardiogramme ; pression artérielle, saturation en O₂, capnographie ; analyseur de vapeur anesthésique, pour les anesthésies avec un circuit filtre alimenté par un faible débit de gaz frais. Dans notre enquête le monitoring standard était présent dans 100% des structures. Ce qui répond aux recommandations de bonne pratique d'anesthésie, cette proportion n'est pas similaire à celle de Belkrezia au Maroc, et Brouh en Côte d'Ivoire [10]. L'utilisation de la capnographie était de 34,4% au Maroc et 10% au Cote d'Ivoire. Ceci pourrait être expliqué par la qualité des moniteurs utilisés dans ces deux pays. Dans notre enquête, le monitoring hémodynamique invasif et en particulier le

moniteur de la pression artérielle invasive (PAI) est présent seulement dans 07 structures. C'est une proportion très faible par rapport à l'élargissement des indications de la PAI (chirurgie carcinologique, neurochirurgie, chirurgie thoracique, prélèvement pour gazométrie, les états de choc) [11]. C. Motamed dans son enquête portée sur 200 dossiers d'anesthésie informatisés, au niveau des îles de France, a trouvé que le monitoring de la curarisation était présent dans 94% des établissements (a évolué de 64% à 94%) [12]. Alors que le monitoring de la curarisation était présent que dans 02 structures incluses dans notre travail. Malgré qu'il soit utile pour l'intubation trachéale, pour adapter la curarisation aux contraintes chirurgicales, ainsi que pour évaluer la curarisation résiduelle et indiquer la réversion pharmacologique. Les indications du monitoring de la curarisation sont larges, surtout en cas de réinjection ou perfusion continue de curare ou d'hypothermie [13]. L'insuffisance en matière de l'utilisation du monitoring de la curarisation dans les salles opératoires, pourrait être en rapport avec la non disponibilité de ce type de monitoring dans nos blocs opératoires dont la gestion de ces derniers ne dépend pas des MAR dans la majorité des structures. Dans notre enquête un peu plus de 2/3 des structures n'ont pas de plateau d'intubation difficile. Il est vital

d'avoir ce plateau, pour l'intubation difficile prévisible ou non prévisible. Alors que la haute autorité de la santé en France a recommandé le plateau d'intubation difficile dans tous les blocs opératoires et tous les sites d'anesthésie et ceci depuis les années 1990.

5. Conclusion

Le présent travail constitue une étape pour l'instauration de la culture d'évaluation dans le domaine médical, en général, et dans le domaine d'anesthésie réanimation en particulier. L'analyse critique concernant les sites de la pratique d'anesthésie et le monitoring, ainsi que le lieu de l'exercice (EPH, EHS, ou CHU) ne doit pas influencer sur le métier d'anesthésiste-réanimateur sur le niveau de sécurité des sites. Notre enquête a révélé plusieurs insuffisances, notamment en matière de matériels nécessaires pour la sécurité des patients aux différents blocs opératoires de l'Est algérien. Des mesures et des audits à répétition sont nécessaires afin d'élever le seuil de la sécurité des patients au niveau des sites d'anesthésie, notamment dans les blocs opératoires.

Déclaration d'intérêts

L'auteur déclare ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Bibliographie

1. Short T G. O'regan A. Jayasuriya J P. Rowbottommtaoh. T E. 1996. Improvement in anaesthetic care resulting from a critical incident reporting programme. *Anaesthesia* 1996; 51: 615-621.
2. Société marocaine d'anesthésie et de réanimation. 2016. Recommandations de la SMAR 2016, concernant la sécurité en anesthésie.
3. Association française de normalisation (AFNOR) et Union technique de l'électricité. -1987-Norme française NF C 15-211, Juin 1987. Installations électriques à basse tension. Installations dans les locaux à usage médical
4. Chaoui F., Legros M. 2012. Les systèmes de santé en Algérie, Maroc, Tunisie, Défis Nationaux et en jeux partagés. *Les Notes IPEMED* N°13, Avril 2012.
5. Santé en chiffre. 2016. Direction de la planification. *MSPRH*. Algérie.
6. Ministère de la santé et des affaires sociales. 1974. Circulaire n° 394 du 30 avril 1974, relative à la sécurité des malades anesthésiés. France.
7. Ministère de la santé et des affaires sociales. 1985. Circulaire DGS/3A/431/4B du 27 juin 1985, relative à la sécurité des malades anesthésiés dans les établissements sanitaires hospitaliers publics et privés. France.
8. Ministère de la santé et des affaires sociales. 1982. Circulaire n°340 DGS/POS 3A du 23 mars 1982, relative à la sécurité des malades anesthésiés. France.

9. **Otteni JC. 1994.** Recommandations concernant la surveillance des patients en cours d'anesthésie. *SFAR*. 2^{ème} édition. Janvier 1994.
10. **Brouh Y , Tétchi YD , Pete Y, et al. 2011.** La pratique de l'anesthésie en côte d'ivoire. *Revue africaine d'anesthésiologie et medecine d'urgence*. Aout ; 16(1).
11. **Pavlin JD, Souter KJ, Hong JY, et al. 2005.** Effects of bispectral index monitoring on recovery from surgical anesthesia in 1,580 in patients from an academic medical center. *Anesthesiology*. 2005 ; 102 : 566-73.
12. **Motamed C , Bourgain JL .2009.** Impact d'une démarche d'évaluation des pratiques professionnelles sur l'utilisation du monitoring de la curarisation et l'antagonisation des curares. *Ann Fr Anesth Réanim*. 2009 Avr ; 28(4) : 297-301.
13. **Debaene B, Plaud B, Dilly MP, et al. 2003.** Residual paralysis in the PACU after a single intubating dose of non-depolarizing muscle relaxant with an intermediate duration of action. *Anesthesiology*. 2003 ; 98 (10) :42-8.

Risque infectieux chez l'immunodéprimé Au CLCC-Batna



Article original
Microbiologie clinique

A.KASSAH-LAOUAR^{1,3}-A.Tobbi^{2,3}-N.Chabane¹, W.Benbrahim⁴, Ouchen⁵, A.Benharra¹

¹LCBM-CLCC-Batna, ²SEMEP-Batna, ³Laboratoire GRIAS, ⁴service d'oncologie médicale CLCC-Batna,

⁵service d'oncologie pédiatrique CLCC-Batna,

prkassah@yahoo.fr

Résumé.

L'infection chez l'immunodéprimé est une urgence diagnostique et thérapeutique, elle est une cause majeure de décès chez les malades d'oncologie. Ces infections sont à la fois plus fréquentes et plus graves que chez les malades immunocompétents ou non cancéreux. L'intensification des protocoles de chimiothérapie, les nouvelles indications de ces traitements lourds et la prise en charge des malades à des stades toujours plus avancés de la néoplasie, ont conduit à l'émergence de pathologies infectieuses nouvelles ou plus sévères. La survenue d'une complication infectieuse chez un malade porteur d'une hémopathie maligne ou d'une tumeur solide pose des problèmes diagnostiques et thérapeutiques complexes. Le diagnostic d'infection de l'immunodéprimé s'appuie d'abord sur l'analyse de données anamnestiques, cliniques et radiologiques. Les aspects protéiformes des pathologies rencontrées et l'absence fréquente de spécificité des signes cliniques et radiologiques soulignent cependant l'importance des investigations complémentaires : imagerie et, surtout, analyses microbiologiques.

L'effort du clinicien doit porter en priorité sur l'identification des causes infectieuses, majoritaires et susceptibles de déboucher sur un traitement.

Mots clés : immunodéprimé, oncologie, infection, microbiologie

Summary.

Infection in the immunocompromised is a diagnostic and therapeutic emergency, it is a major cause of death in patients with oncology. These infections are both more frequent and more serious than in immunocompetent or non-cancerous patients. The intensification of chemotherapy protocols, the new indications for these heavy treatments and the management of patients at ever more advanced stages of neoplasia, have led to the emergence of new or more severe infectious pathologies. The occurrence of an infectious complication in a patient with a malignant hemopathy or a solid tumor poses complex diagnostic and therapeutic problems. The diagnosis of infection of the immunocompromised is first based on the analysis of anamnestic, clinical and radiological data. The protean aspects of the pathologies encountered and the frequent lack of specificity of clinical and radiological signs, however, underline the importance of additional investigations: imaging and, above all, microbiological analyzes.

The clinician's effort must primarily focus on identifying the infectious causes, which are the majority and likely to lead to treatment.

Keywords: immunocompromised, oncohematology, infection, microbiology

1- Généralités

Chaque année, 4000 patients décèdent d'une infection liée aux soins (IAS) contractée dans l'établissement de santé dans lequel il est traité pour une autre cause. Ces IAS touchent en moyenne un patient hospitalisé sur vingt. Longtemps pointés du doigt, les hôpitaux sortent peu à peu du silence pour aider à prévenir ces pathologies. Les IAS sont des événements indésirables qui en péril la sécurité des patients. On estime que 5 % à 15 % des patients hospitalisés font une IAS dans les pays développés ; ce risque est 2 à 20 fois plus élevé dans les pays en voie de développement. (>25%). Dans la région de la Méditerranée orientale, OMS estime le taux entre 12-18%. Les coûts économiques liés à ces infections sont considérables pour les services de santé et la prévention d'un cas d'infection liée aux procédures

de soins permet d'économiser en moyenne plus de 10 000 USD et de réduire le risque de décès du patient de 7 % à 1,6 % [1].

« Personne n'est à l'abri d'une infection liée aux soins. Le risque zéro n'existe pas. Dès qu'il y a une abrasion de la peau, il y a un danger qui peut être plus ou moins important selon le profil du patient ».

2- Introduction

Urgence diagnostique et thérapeutique, l'infection est une cause majeure de décès chez les malades d'oncologie médicale. Les infections sont, chez l'immunodéprimé, à la fois plus fréquentes et plus graves que chez les malades non cancéreux. L'intensification des protocoles de chimiothérapie, les nouvelles indications de ces traitements lourds et la prise en charge des malades à des stades

toujours plus avancés de la néoplasie, ont conduit à l'émergence de pathologies infectieuses nouvelles ou plus sévères. Les nouvelles techniques de greffe de cellules-souches hématopoïétiques et les nouveaux immunosuppresseurs vont en outre induire une modification profonde des schémas classiques d'immunodépression, où se mêlent les caractéristiques de la néoplasie et des traitements.

La survenue d'une complication infectieuse chez un malade porteur d'une hémopathie maligne ou d'une tumeur solide pose des problèmes diagnostiques et thérapeutiques complexes. Le diagnostic d'infection de l'immunodéprimé s'appuie d'abord sur l'analyse de données anamnestiques (nature de la néoplasie, traitement immunosuppresseur et ses toxicités), cliniques et radiologiques. Les aspects protéiformes des pathologies rencontrées et l'absence fréquente de spécificité des signes cliniques et radiologiques soulignent cependant l'importance des investigations complémentaires : imagerie et, surtout, analyses microbiologiques.

L'effort du biologiste doit porter en priorité sur l'identification des germes en cause de l'infection, majoritaires et susceptibles de déboucher sur un traitement chez l'immunodéprimé.

La mise sur le marché de nouvelles molécules, en particulier antifongiques et antivirales, permet un espoir raisonnable de guérison d'infections jusqu'alors au-dessus de toute ressource thérapeutique. Surtout, le perfectionnement des stratégies de prévention doit permettre de limiter la survenue de telles complications, au pronostic encore souvent réservé.

Enfin, du fait de la complexité des situations rencontrées et des difficultés diagnostiques et thérapeutiques majeures, la prise en charge des infections graves de ces patients, aux caractéristiques tout à fait particulières, ne doit s'envisager qu'en milieu spécialisé, au sein d'équipes d'oncologie et/ou de réanimation habituées à la gestion de telles situations.

3- L'homme est un réservoir

L'Homme c'est: 10% de Cellules et 90% de microbes

À la naissance les bébés sont dépourvus de micro-organisme, néanmoins ils deviennent rapidement colonisés par une microflore dense et complexe venant de la mère et du milieu environnant. Un Homme adulte héberge environ 10^{14} cellules bactériennes dans son tube digestif, sur sa peau et ses muqueuses. Cette microflore peut être résidente (commensale) ou transitoires (saprophyte).

- Microflore résidente ou autochtone est unique. Elle est pionnière et particulière d'un individu et de son environnement. Elle est normalement présente sur la peau et les muqueuses des sujets sains. Elle est commensale et participe activement au maintien de la santé.

- Microflore transitoire est le premier signal d'un changement d'environnement. C'est elle qui permet l'adaptation de l'Homme à tout ce qui l'entoure. Cette flore se nourrit de matières organiques en décomposition. Elle contient des bactéries de l'environnement qui se développent dans la nature aux dépens des végétaux et des produits animaux, mais peuvent se retrouver-état transitaire- à la surface de la peau et des muqueuses.

La flore résidente et transitoire peuvent être distribuées en 4 flores principales (cutanée, respiratoire, génitale et digestive) [2].

HOMME GRAND DISSEMINATEUR

L'homme perd 100 à 10 000 germes à chaque « pas » lors de ses déplacements, ces germes sont éliminés en même temps que les squames de la peau, et constituent une part importante de la « poussière ».

4- Facteurs de risque infectieux en oncologie

4.1-Rôle de la néoplasie sous-jacente

Les tumeurs solides sont responsables de complications mécaniques par obstruction tumorale, bronchique ou digestive, ou par perforation/rupture : péritonite par perforation diastatique en amont d'une tumeur occlusive, ou pyopneumothorax par perforation œsophagienne.

Tableau-1- Complications infectieuses liées aux différents types d'immunodépression [3]

	Complications infectieuses
Déficit de la fonction phagocytaire	Germes figurés (cocci à Gram positif cutanés ou ORL, bacilles à Gram négatif digestifs, ...)
Neutropénie	Infections fongiques: candidose, aspergilliose, ($\pm$ mucormycose) Infections virales: herpès-simplex, virus respiratoire syncytial
Déficit de l'immunité cellulaire	Bactéries intracellulaires: bactéries atypiques, mycobactéries Infections fongiques: cryptococcose, pneumocystose Infections virales: herpès-simplex, varicelle-zona, cytomégalovirus, Herpesvirus type 6, virus Epstein-Barr, adénovirus.
Déficit de l'immunité humorale/asplénie	Bactéries, en particulier germes capsulés (pneumocoque, <i>Hemophilus</i>), <i>M. catarrhalis</i> , ... Infections virales: virus respiratoire syncytial, influenzae et para-influenzae, parvovirus, astrovirus. Infections parasitaires: babésiose (asplénie)

Les tumeurs solides se compliquent plus fréquemment d'infections urinaires ou du site opératoire, alors que bactériémies ou pneumopathies sont davantage observées au cours des leucémies ou des lymphomes [4]. Les déficits de l'immunité humorale sont liés à une atteinte des immunoglobulines. L'asplénisme (anatomique ou fonctionnel) est à rapprocher des déficits humoraux, et expose à un risque infectieux. Les leucémies aiguës réalisent préférentiellement une atteinte de la fonction phagocytaire macrophagique et des polynucléaires. Enfin, une immunodépression de

type cellulaire prédominant s'observe au cours des lymphomes (hodgkiniens ou non) ou des leucémies lymphoïdes chroniques. La situation immunologique est de plus profondément modifiée par l'influence des thérapeutiques.

Tableau -2-Principales complications infectieuses liées aux hémopathies [3]

	Complications infectieuses
Leucémies aiguës	Infections bactériennes ; mycoses
Leucémies à tricholeucocytes	Tuberculose, aspergillose, légionellose
Lymphomes	Infections intracellulaires
Myélomes/asplénie	Bactéries encapsulées
Sd. lymphoprolifératifs	Infections à germes intracellulaires ; bactéries capsulées
Sd. myéloprolifératifs	Lors de transformation en leucémie aiguë : cf. LA.

Sd, syndromes ; LA, leucémies aiguës.

4.2- Chimiothérapie anticancéreuse

La chimiothérapie anticancéreuse, de façon très générale, prédispose aux infections par diminution de la bactéricidie, de la phagocytose et du chimiotactisme des polynucléaires. En particulier, le méthotrexate semble un facteur favorisant de pneumocystose pulmonaire. La neutropénie induite par la chimiothérapie favorise les infections bactériennes et mycotiques.

Tableau -3- Profondeur de la neutropénie selon OMS [5]

Grade	1	2	3	4
PNV (giga/L)	1,9-1,5	1,4-1	0,9-0,5	<0,5

Les neutropénies courtes, < 7–10 j, prédisposent aux infections à bactéries à Gram négatif (BGN), d'origine digestive, à Gram positif, issus de la sphère ORL ou cutanée, et à *Candida* spp. Les neutropénies prolongées, >7–10 j, prédisposent en outre à l'aspergillose et aux candidoses disséminées. La neutropénie favorise en outre les infections récurrentes à virus Herpès. Le risque infectieux est corrélé à la durée et à la profondeur de la neutropénie : < 500 mm³, risque multiplié par 2,5 ; < 100mm³, risque multiplié par 10 [4]. Les translocations bactériennes à partir du tube digestif, en particulier à BGN, observées en aplasie sont favorisées par la fragilisation de la muqueuse digestive par certaines chimiothérapies [6]. La procalcitonine semble être un marqueur précoce et discriminant des causes bactériennes de fièvre en aplasie, mais son intérêt en pratique clinique est peu clair [7].

4.3. Greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH)

Les greffes de CSH périphériques sont associées à un risque infectieux proche de celui des autogreffes médullaires, quoique la durée de neutropénie soit un peu plus courte (10–12 j) que pour les autogreffes (12–15 j). À l'opposé, l'allogreffe

expose à des complications infectieuses et immunologiques majeures ; 3 phases se succèdent. Au cours de la première phase, marquée par l'aplasie médullaire, les risques infectieux sont liés à la neutropénie profonde (< 100 PMN) et prolongée (20 j), à la présence de cathéters veineux centraux, et à celle d'une mucite diffuse, exposant à un risque de translocation digestive. Au cours de cette phase précoce, le risque infectieux (principalement bactérien, fongique voire herpétique) est directement corrélé à la profondeur de la neutropénie, et à l'utilisation d'une antibiothérapie prophylactique ou systémique empirique [8]. La greffe de CSH expose également à une atteinte de la fonction phagocytaire, macrophagique, qui dépasse largement la période d'aplasie [9]. En outre, les manifestations infectieuses respiratoires peuvent être aggravées par une hémorragie intra-alvéolaire, favorisées par la thrombopénie. Après l'aplasie (2^e au 4–6^e mois), l'immunodépression est surtout de type cellulaire, liée à l'expression de la maladie du greffon contre l'hôte, et, à un degré moindre, à la prophylaxie de la maladie du greffon contre l'hôte par ciclosporine, méthotrexate et corticoïdes. Les infections sont principalement dues à *Pneumocystis carinii*, ou aux germes intracellulaires (cytomégalovirus [CMV] ou *Aspergillus* sp, voire Adénovirus ou *Toxoplasma gondii*). À cette période, différentes atteintes, notamment respiratoires, se surajoutent aux complications infectieuses comme le «syndrome de pneumopathie interstitielle» ou la bronchiolite oblitérante avec organisation pneumonique. Enfin, après le 4–6^e mois, la survenue d'une maladie du greffon contre l'hôte chronique, parfois à l'origine de «pneumopathies interstitielles tardives», peut nécessiter une immunosuppression au long cours, à l'origine d'infections à germes opportunistes, en particulier à virus varicelle-zona. Il existe en outre à cette période une asplénie fonctionnelle, due à l'irradiation. En cas d'allogreffe non apparentée, qui fait appel à des donneurs sur fichier, le risque de rejet ou de maladie du greffon contre l'hôte est non seulement plus élevé, mais le risque infectieux est aussi 2 à 3 fois supérieur, et la reconstitution immunitaire, notamment CD4, ralentie. Au cours des allogreffes de CSH «déplétées» en cellules T, la lymphopénie CD4 pourrait majorer le risque théorique d'infection opportuniste [3].

4.4- Autres facteurs de risque

Les corticoïdes sont à l'origine d'une atteinte de la fonction phagocytaire, qui constitue la première ligne de défense antifongique, et d'une immunodépression cellulaire (Tableau 1). Ils sont un facteur de risque majeur de pneumocystose et, à forte dose, exposent à la survenue d'aspergilloses, de nocardioses, voire d'anguilluloses malignes.

La radiothérapie favorise une immunodépression locale [9]. L'irradiation corporelle totale, souvent

associée au conditionnement précédant l'allogreffe, favorise la neutropénie.

La splénectomie, anatomique ou fonctionnelle (p. ex. après irradiation), est responsable d'une immunodépression humorale. Elle favorise les infections à germes encapsulés (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, Ménin-gocoque), à salmonelles, à colibacilles, voire la survenue d'infections dues à *Capnocytophaga canimorsus*, *Babesia* sp. ou, en zone endémique, à *Plasmodium* [10].

L'immunothérapie par interleukine-2 est associée à des infections à *Staphylococcus aureus* chez des patients porteurs de cathéter veineux central, traités pour cancer du rein ou mélanome malin.

La ciclosporine, l'azathioprine ou le sérum antilymphocytaire exposent à une immunodépression de type cellulaire. Les risques d'infection fongique, virale, de mycobactériose, de pneumocystose ou de listériose sont au premier plan, en particulier en cas de stade avancé de la maladie ou de corticothérapie associée [3].

5-Critères de gravité

Toute fièvre aiguë chez le patient immunodéprimé est une **urgence diagnostique et thérapeutique**. Les critères de gravité sont liés à :

•l'infection :

–localisation de l'infection et importance de l'inoculum (poumons > abdomen > rein et voies urinaires). Les infections neuro-méningées et cutanéomuqueuses (fasciite nécrosante, gangrène gazeuse) sont de plus mauvais pronostic,

–signes de **sepsis** ou de **choc septique** : défaillance d'organes (*Sepsis-related Organ Failure Assessment score* ou *SOFA*), *qSOFA* (quick *SOFA*) = deux critères parmi hypotension artérielle, polypnée et troubles de la conscience, marbrures cutanées, acidose lactique ; •l'immunodépression, dont il faut évaluer la nature et la profondeur :

- Numération formule sanguine (NFS), électrophorèse des protéines, dosage pondéral des immunoglobulines, du complément et du taux des lymphocytes (CD4 et CD8),
- neutropénie et sa durée prévisible[5].

6-Principaux germes impliqués

6.1- Bacilles à Gram négatif (fréquents),

très souvent résistants aux antibiotiques :

–*Escherichia coli* et autres entérobactéries (*Klebsiella* ++). Ils sont d'origine digestive et peuvent infecter la sphère urinaire ou respiratoire ;

–*Pseudomonas aeruginosa*, c'est un germe ubiquitaire, vivant sur les sols et dans les endroits humides.

6.2- Cocci à Gram positif :

–staphylocoques à coagulase négative et dorés : souvent résistants à la méticilline, d'origine cutanée

; infections favorisées par les dispositifs intravasculaires ;

–streptocoques d'origine buccale (mucite) ou digestive.

6.3-Champignons ou levures :

–le risque d'infection fongique augmente si la neutropénie fébrile se prolonge au-delà de 15 jours ;

–candidoses profondes et candidémies ;

–aspergillose sinusienne et/ou pulmonaire et aspergillose invasive ;

–mucorales, rares mais de pronostic effroyable.

6.4-Virus : notamment *herpesvirus*[11-13].



Figure-1- Principaux germes d'IAS chez l'immunodéprimé

7- Facteurs de risque des infections associées aux soins :

On identifie 4 grands facteurs de risque d'acquisition d'une IAS : L'environnement des soins, l'acte de soin et l'état pathologique du patient.

7.1-Environnement des soins :

infection facilitée par la présence physique dans des structures ou lieux dans lesquels sont délivrés des soins dans le cadre d'une prise en charge. Ces infections vont concerner les résidents dans ces structures, malades ou non, mais également les soignants et les visiteurs.

7.2-Acte de soins : infection facilitée

par la réalisation d'actes de soins, que ces actes soient effectués dans un établissement de santé ou en dehors. Il s'agit de gestes de soins ayant une finalité diagnostique, thérapeutique (initiale ou de suivi), de dépistage ou de prévention primaire.

7.3--Etat pathologique du patient :

infection facilitée par la présence de certaines pathologies sous-jacentes affaiblissant les défenses d'un individu (ex.diabète, immunosuppression sur greffe, dialyse, chimiothérapie, antibiothérapie au long court, etc.).

Les IAS sont donc favorisées par une promiscuité forte entre malades (la saturation des lits des services y contribue), par un statut immunitaire fragilisé des patients, par des écarts dans l'application stricte des mesures d'hygiène par les soignants dans les soins ou pour l'usage des dispositifs médicaux, enfin par le manque d'observation des consignes par les patients ou les visiteurs infectieux.

7.4--Spécificité de l'antibiothérapie chez l'immunodéprimé :La prise en charge des infections chez l'immunodéprimé a été

individualisée, en raison de leur fréquence chez ces patients, de leur lourde mortalité en cas de retard thérapeutique, de la difficulté d'obtenir un diagnostic microbiologique rapide et des données pharmacocinétiques particulières concernant l'antibiothérapie, notamment chez les neutropéniques.

La grande diversité des pathogènes potentiellement responsables des infections nosocomiales et leur grande variabilité de sensibilité aux antibiotiques, imposent une documentation la plus exhaustive possible de l'agent causal, avant tout traitement d'une infection.

Ainsi, la connaissance de l'épidémiologie de la résistance des bactéries aux antibiotiques et son évolution dans le temps en fonction de la progression ou de l'apparition des mécanismes de résistance, est une étape indispensable pour établir des propositions d'antibiothérapie des infections associées aux soins

L'utilisation rationnelle des antibiotiques en association avec les précautions standard d'hygiène permettent d'éviter aux patients une thérapie à large spectre avec sélection des mutants résistants pouvant aller jusqu'à l'impasse thérapeutique [14,15]

8- Epidémiologie des IAS [16]

Pour développer une infection nosocomiale, il faut que trois éléments soient réunis :

- 1- un agent infectieux.
- 2- un mode de transmission.
- 3- un sujet réceptif :

8.1- Agent infectieux Les infections nosocomiales sont généralement dues à des bactéries

• **Commensales**, c'est à dire des germes qui ne peuvent vivre qu'au contact de notre organisme. Ces bactéries sont souvent utiles au bon fonctionnement du corps humain; en revanche, si pour une raison ou pour une autre lors d'une intervention chirurgicale, ces germes sont déversés dans la cavité abdominale, ils deviennent dangereux et pathogènes.

• **Saprophytes**, c'est-à-dire vivant dans l'environnement de l'Homme (l'eau, l'air...) et pouvant le coloniser dans certaines conditions.

Tableau -4- microflore de l'homme [16]

	Espèces résidentes	Espèces transitoires
• Flore aéro-digestive sup.	• Streptocoques anaérobies • Corynebactéries	• <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> • Levures
• Flore cutanée	• Streptocoques • <i>Staphylococcus epidermidis</i>	• <i>Staphylococcus aureus</i> • Levures
• Flore intestinale	• 95% bactéries anaérobies • 5% Aéro-anaérobies : • Entérobactéries • <i>Enterococcus faecalis</i>	• <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>P. aeruginosa</i> • Levures
• Flore vaginale	• 90% Lactobacilles • 10% flore intestinales	• 10% <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>P. aeruginosa</i> • Levures

8.2- Mode de transmission : on distingue différentes voies de transmissions :

- **Transmission directe inter-humaine aéroportée :** élimination des microorganismes des muqueuses respiratoires (nez, pharynx, bronche, poumon) BK, virus respiratoires
- **manuportée +++**

- **Transmission indirecte nécessite un intermédiaire (vecteur)**

• **Voie respiratoire :**

• **Voie digestive :** matières fécales

• **Voies urinaires**

• **Lésions cutané-muqueuses** ouvertes (lésions ulcérées, croûteuses, des fistulisations d'abcès profonds qui extériorisent le microorganisme etc...)

• **Transmission par le Sang et les liquides biologiques [17].**

8.2- Réceptivité du patient Les patients hospitalisés ont souvent des défenses immunitaires altérées, du fait de pathologies portant directement atteinte à leurs capacités immunitaires (diabète, insuffisance respiratoire, pathologies immunitaires grands brûlés...). Ainsi les personnes dénutries ou aux âges extrêmes de la vie sont plus réceptives aux infections en général, et nosocomiales en particulier [18].

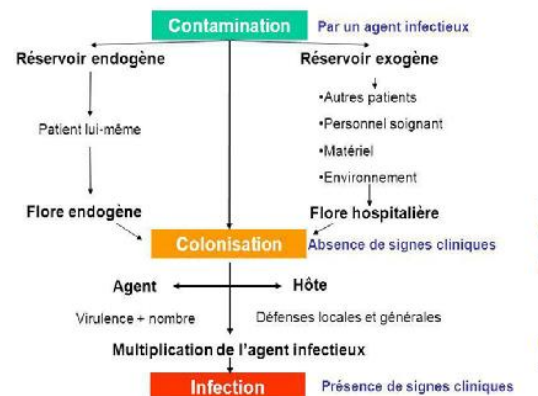


Figure- 2 – Origine des contamination-chaîne de transmission

9- Matériel et méthodes

9.1- Description du site

Le service d'oncologie du Centre de Lutte Contre le Cancer (CLCC) de Batna sont de nouveaux services qui ont ouvert leurs portes récemment en 2012, accueillent les patients de tout âge, ils drainent principalement les malades de la région des Aurès et de la région Sud-Est du pays atteints d'hémopathies malignes, de tumeurs solides et autres pathologies néoplasiques. Ils comptent 240 lits d'hospitalisation conventionnelle, des consultations et un hôpital du jour ne faisant pas partie de l'étude. Les malades atteints de tumeurs solides, de leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) bénéficient de la pose d'un cathéter central, suivis pour leucémies lymphoblastiques (LAL) requièrent la mise en place de site implantables (chambres implantables). Chaque nouvelle

admission bénéfique systématiquement de prélèvements de dépistage de colonisation à la recherche de BMR et /ou de BHRé, un écouvillonnage rectal à la recherche d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargie (EBLSE) et/ou productrices de carbapénémases (EPC) de même la recherche d'*Enterococcus* résistant aux glycopeptides (ERG), la recherche du portage nasal de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline est réalisée à l'aide d'un écouvillon qu'on introduit dans les narines du malade. Aucun protocole de décontamination n'est préconisé dans le centre.

9.2-Matériel d'étude

9.2.1-Type d'étude et collecte de données

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive à visée analytique avec collecte de données de manière prospective étalée sur 46 mois, du 1^{er} Février 2016 au 31 Décembre 2020. Tous les patients admis en hospitalisation durant cette période étaient éligibles à l'étude. Nous avons retenu comme infection associée aux soins(IAS), toute infection localisée ou systémique survenant ou non à l'hôpital et imputé aux procédures thérapeutiques et/ou déficit immunitaire induit par le traitement et/ou aux soins infirmiers reçus durant la période d'hospitalisation. La fiche de renseignements cliniques était remplie par le médecin responsable du patient en cours d'hospitalisation. Les données ont été recueillies de façon prospective selon cette fiche préalablement établie permettant de préciser les données épidémiologiques cliniques, para-cliniques, thérapeutiques et évolutives des épisodes infectieux.

9.2.2-Souches bactériennes :

Nombre de prélèvements : 12863 (urines exclues)
Échantillonnage : 1478 souches bactériennes cliniques non répétitives
Nature des prélèvements : tous prélèvements confondus (urines exclues)
Origine des souches : service d'oncologie CLCC Batna

9.3- Méthodes d'étude :

9.3.1-isolément et identification des souches bactériennes: techniques conventionnelles de diagnostic bactériologique manuelles (galerie API 20E) et semi-automatisée Vitek2 (bioMérieux-France)

9.3.2— Sensibilité aux ATB : la sensibilité aux antibiotiques des souches de l'étude a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton selon la technique de Kirby-Bauer avec des disques chargés (Disques Oxoid), Un contrôle de qualité a été effectué avec les souches de référence : *E. coli* ATCC25922.S. *aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 *E. faecalis* ATCC 29812 et l'interprétation des résultats en catégorie Sensible (S), Intermédiaire (I)

et Résistant(R) a été faite selon les recommandations du CLSI(OMS).

9.3.3– Des techniques semi-automatisées ont été réalisées afin de confirmer le diagnostic en cas de doute, Vitek 2 (carte AST–XN05, version logicielle 04.02).4– Détermination des CMI–Etest : Imp–ERT/Vitek 2.

9.3.4- Des tests complémentaires et/ou phénotypiques pour la mise en évidence soit une BLSE et /ou d'une carbapénémase (test de Hodge modifié) ont été réalisés.

10- Résultats

10.1- Distribution des prélèvements Tableau-5-Répartition globale des Prélèvements

Prélèvements	E ffectifs	Fréquence %
Prélèvements positifs	1478	11.50%
Prélèvements négatifs	11205	88.5%
Total prélèvements	12683	100%

Sur les 12683 prélèvements reçus au LCBM (urines exclues) seules 1478 sont positifs ce qui représente une fréquence de positivité de 11.50% plus des deux tiers des prélèvements sont négatifs (88.5%).

Tableau-6- Distribution des prélèvements selon la nature

Nature Prélèvements	E ffectifs	Pourcentage (%)
Hémoculture	9989	78%
Bactério. Gén. Pus et sérosités purulentes (pus, Kt, Su...)	2874	22%
Total	12683	100%

La distribution selon la nature du prélèvement renseigne que 78% (9989) sont des hémocultures, ceci peut être expliquée par la fréquence des bactériémies chez cette catégorie de malades, d'où l'intérêt de la multiplicité des hémocultures.

Tableau-7- Distribution des prélèvements en fonction du site

Nature Prélèvements	E ffectifs	Positif	%
Hémoculture	9989	623	6.23
Bact.Gén.	2875	855	29.7
Total	12683	1478	11.5

Le taux faible de la positivité des prélèvements particulièrement les hémocultures (623/9989) = 6.23% rentre généralement dans un but de demande systématique diagnostique et thérapeutique.

Tableau-9- Distribution des prélèvements positifs s-8lon la nature

Nature des prélèvements	E ffectifs	Pourcentage (%)
Hémoculture (Bactériémie)	623	42.2
Bactériologie générale	855	57.8
T otal de positif	1478	100

Sur les 1478 prélèvements positifs, 855 proviennent de la bactériologie. Gén. (57.8%) contre 623 (42.2%) des hémoc. (Bactériémies)

10.2-Distribution selon le sexe

Sex-ratio

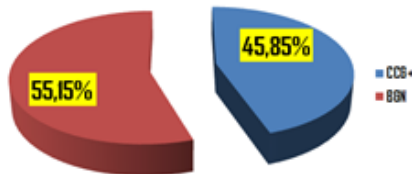
La distribution selon le sexe montre une légère prédominance du sexe masculin (54 % vs 46 %) avec un sex-ratio de 1,18.

10.3-Distribution selon l'âge

Sur les 12683 malades inclus dans notre étude, l'âge adulte est prédominant, soit 77 % adultes et 23 % enfants.

10.4-Répartition des prélèvements positifs en fonction des souches isolées (N=1478)

BGN=815
CGP=663



Les bacilles à Gram négatif sont majoritaires avec 55.15 % vs de cocci à Gram positif 45.85 %

10.5- Distribution des BGN (N=815)

	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>Proteus spp.</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>	Autres	Total
Effectifs (N=)	285	211	73	171	65	10	815
Fréquence %	35	26	9	21	8	1,2	100

E.coli est le chef de file des BGN (285/35%), suivi de *K.pneumoniae* (211/26%), *P.aeruginosa* (171/21%)

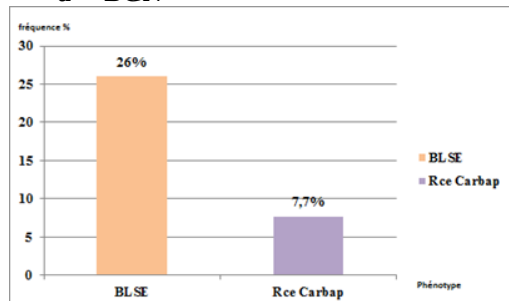
10.6-CGP N= 663

	SCN	<i>S.aureus</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	Autres CGP	Total
Effectifs (N=)	478	122	35	28	663
Fréquence %	72	18.4	5.27	4.2	100

SCN est de loin le CGP qui prédomine chez cette catégorie de malades 748/72%

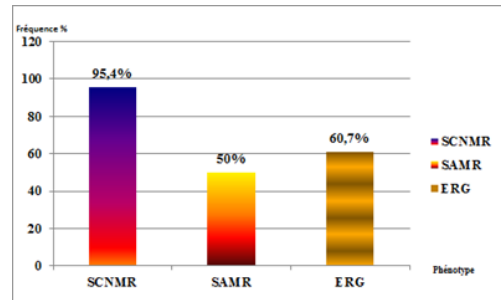
10.7-Phénotype de résistance aux antibiotiques

a- BGN



26% de souches de BGN produisent une BLSE contre 7.7% qui résistent aux carbapénèmes.

b- CG+



Plus de 95% des souches de SCN sont résistantes à l'oxacilline contre 50% pour les SAMR. Plus de 60% des souches isolées d'*Enterococcus* sont résistantes aux glycopeptides.

11- Discussion

Les infections sont, chez l'immunodéprimé, à la fois plus fréquentes et plus graves que chez les malades non cancéreux. L'intensification des protocoles de chimiothérapie, les nouvelles indications de ces traitements lourds et la prise en charge des malades à des stades toujours plus avancés de la néoplasie, ont conduit à l'émergence de pathologies infectieuses nouvelles ou plus sévères. La survenue d'une complication infectieuse chez un malade porteur d'une hémopathie maligne ou d'une tumeur solide pose des problèmes diagnostiques et thérapeutiques complexes. Le diagnostic d'infection de l'immunodéprimé s'appuie d'abord sur l'analyse de données anamnestiques (nature de la néoplasie, traitement immunosuppresseur et ses toxicités), cliniques et radiologiques. Les aspects protéiformes des pathologies rencontrées et l'absence fréquente de spécificité des signes cliniques et radiologiques soulignent cependant l'importance des investigations complémentaires : imagerie et, surtout, analyses microbiologiques [19].

Les neutropénies courtes, < 7-10 j, prédisposent aux infections à bactéries à Gram négatif (BGN), d'origine digestive, à Gram positif, issus de la sphère ORL ou cutanée, et à *Candida spp.* Les neutropénies prolongées, > 7-10 j, prédisposent en outre à l'aspergillose et aux candidoses disséminées. La neutropénie favorise en outre les infections récurrentes à *Herpes virus*. Le risque infectieux est corrélé à la durée et à la profondeur de la neutropénie : < 500/mm³, risque multiplié par 2,5 < 100/mm³, risque multiplié par 10 [4]. Les translocations bactériennes à partir du tube digestif, en particulier à BGN, observées en aplasie sont favorisées par la fragilisation de la muqueuse digestive par certaines chimiothérapies [6]. Il existe une relation très étroite entre le port de dispositifs intraveineux, les infections associées aux soins (IAS) et les 42.2% de bactériémies enregistrées dans notre étude, ces taux sont similaires à ceux rapportés dans la littérature (42.7 et 55.5%) [20-23].

Une augmentation des infections à bactéries à Gram positif (60 à 70% des infections) en particulier à *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN) et à

Streptococcus viridans a été notée à la fin des années 80 [46-48]. En revanche, depuis le début du 21^e siècle, une réascension des infections à bactéries à Gram négatif (BGN) a été observée [49-51]. Dans la présente étude, les BGN occupent la première place avec 55.15% vs 45.85% pour les cocci à Gram positif cela peut s'expliquer par la sous-estimation des prélèvements microbiologiques et/ou l'absence de généralisation des cathéters dans les unités d'oncologie, ou l'utilisation d'une chimiothérapie abrasive entraînant une ulcération des muqueuses digestives et favorisant ainsi la prédominance de BGN, ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par l'équipe marocaine (26%) [20] et inférieurs à ceux de rapportés par d'autres auteurs (70-83%) [21-23].

La quantification des germes par espèce isolée montre que le staphylocoque à coagulase négative occupe la première place avec 32% suivi d'*E.coli* 19.28% ces taux se rapprochent de ceux rapportés par Martinez et al. (SCN : 32%, *E.coli* : 21%) [24] et Cordonier et al. En France (SCN : 31.2%, *E.coli* : 19.6%) [25]. Cela peut s'expliquer par une utilisation de la voie veineuse centrale qui est associée généralement à l'émergence des staphylocoques, au caractère toxique de la muqueuse des chimiothérapies utilisées et à l'utilisation excessive des quinolones qui exercent une pression de sélection sur certains CGP [26].

Tableau-10-Données de la littérature rapportant la répartition des bactéries lors d'épisodes de neutropénies fébriles.

Auteurs années	G.Martinez et al. [24] 1997	Feld et al. [17] 2000	Del Favero [20] 2001	Wisme n et al. [20] 2001	Cordonier et al. [25] 2003	Kanamuru et al. [30] 2004	Chen et al. [31] 2004	Sigurdsson et al. [32] 2005	Bertrand et al. [33] 2005
CGP	43%	44.1%	66.1%	44.4%	67.1%	58.2%	32%	49%	45%
BGN	47%	55.9%	33.9%	55.6%	32.9%	21.6%	57%	41%	49%
Anaérobies	-	-	-	-	-	1.7%	3%	-	3.3%
Champignons	18%	-	-	-	-	12.7%	7%	7%	1.9%
Autres	-	-	-	-	-	13.8%	1%	12%	0.8%
Principales bactéries isolées	SCN (38%) <i>E.coli</i> (21%)	<i>Streptococcus</i> spp. (28%) <i>E.coli</i> (21.5%)	SCV (43.8%) <i>E.coli</i> (16.3%)	<i>E.coli</i> (21%) SCN (15.4%)	SCN (31.2%) <i>E.coli</i> (16.3%)	<i>Staphylococcus</i> spp. (21.5%) <i>Pseudomonas</i> (11.6%)	<i>E.coli</i> (25.6%) <i>Streptococcus</i> spp. (15.6%)	<i>E.coli</i> (28%) <i>Staphylococcus</i> spp. (20.4%)	

Le *P. aeruginosa* occupe la 4^{ème} place avec 11.56%, les streptocoques ne représentent qu'un faible pourcentage dans notre étude. Au-delà de la gravité de l'infection, se pose aujourd'hui de façon souvent préoccupante le problème des résistances des micro-organismes aux traitements antimicrobiens.

Deux cas de résistances doivent être plus particulièrement surveillés : celle des BGN aux bêta-lactamines et celle des CGP aux glycopeptides. Le profil de sensibilité aux antibiotiques des BGN isolés est inquiétant du fait de l'évolution de la résistance allant d'une simple pénicillinase de bas niveau, à une BLSE (26%) voire une carbapénémase (7.7%), signant une impasse thérapeutique.

BGN

Les BGN ont été isolés avec une fréquence de 55.15% *E. coli* représente le chef de file (35%) suivi de *K. pneumoniae* (26%) et *P.aeruginosa* (21%). La résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines est avant tout liée à la production de pénicillinase de type TEM, ou SHV, enzymes présentent dans plusieurs genres bactériens de la famille. La présence et l'évolution de ces pénicillinases vers une BLSE confère une résistance croisée à toutes les bêta-lactamines à l'exception des céfamycines (céfoxitine et moxalactam) et carbapénèmes. Les *Klebsiella* spp. viennent en 2^{ème} position (26%), mais de profil de résistance aux antibiotiques beaucoup plus complexes. Les autres BGN de type non entérobactéries viennent compliquer la situation par leur évolution vers la résistance et l'impasse thérapeutique laissant moins de choix à l'antibiothérapie. Il est à noter que 7.7% des BGN sont résistants aux carbapénèmes par un des mécanismes dont le plus fréquent est l'inactivation de l'antibiotique par une enzyme de type carbapénémase.

CGP

Le problème de la résistance des entérocoques aux glycopeptides (60.7%) se pose avec une gravité infectieuse directement liée à l'absence d'arme thérapeutique efficace. Il faut noter aussi que 95.4% des SCN et 50% des *S.aureus* sont résistants à l'oxacilline.

Déclaration d'intérêts

L'auteur déclare ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Bibliographie

1. Comité Régional de la Méditerranée Orientale (OMS) -2010- Lutte contre les infections et soins de santé : nécessité
2. d'une action de collaboration, 1- OMS EM/RC57/6 Septembre 2010
3. J.C.Bertrand J.C. -2011- Ecologie microbienne : Microbiologie des milieux naturels et anthropiques. Presses universitaires de Pau et des Pays de l'Adour (France). P.1002.
4. Blot F. -2003- Pronostic des infections en onco-hématologie. *Réanimation* 12 ; 235-247
5. Leclercq B., Bussy C., Blot F.-1998- Infections nosocomiales en onco-hématologie. In: Avril JL, Carlet J, editors.

- Les infections nosocomiales et leur prévention. Paris: Ellipses; p. 323–45
6. **Atkinson K, Champlin R, Ritz J, Ljungman P, Fibbe WE-2004-** Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation. Cambridge University Press; 2180 p
 7. **Tancrède C., Andremont AO.- 1985-** Bacterial translocation and Gram negative bacteremia in patients with hematological malignancies. *J Infect Dis*; 152:99–103
 8. **Bernard L., Ferrière F., Casassus P., Malas F., Lévêque S., Guillevin L., and al.-1998-** Procalcitonin as an early marker of bacterial infection in severely neutropenic febrile adults. *Clin Infect Dis*; 27:914–5
 9. **Engels EA., Ellis CA., Supran SE., Schmid CH., Barza M., Schenkein DP., and al.-1999-** Early infection in bone marrow transplantation: quantitative study of clinical factors that affect risk. *Clin Infect Dis* ; 28:256–66.
 10. **Cordonnier C., Cunningham I. Pneumonia. In: Bowden RA, Ljungman P, Paya CV, -1998-** editors. Transplant infections. Philadelphia: Lippincott-Raven publishers; p. 105–20
 11. **Working party of the british committee for standards in haematology clinical haematology task force. -1996-** Guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen. *Br Med J*; 312:430–4
 12. **Averbuch D., Orasch C., Cordonnier C., et Coll.-2011-** ECIL4, a joint venture of EBMT, EORTC, ICHS, ESGICH/ESCMID and ELN. European guidelines for empirical antibacterial therapy for febrile neutropenic patients in the era of growing resistance summary of the 2011 4th European
 13. **Conférence on Infections in Leukemia - 2013-** *Haematologica*; 98(12): 1826–35.
 14. **Pizzo PA.-1999-** Fever in Immunocompromised Patients. *Engl J Med*; 341: 893–900
 15. **P. PARNEIX, - 2007-** Programme national de LIN 2005-2008 : tableau de bord de la lutte contre les infections nosocomiales et indicateurs, C.CLIN Sud-Ouest-CHU Bordeaux, 24 jan. 2007.
 16. **Maxime JP, Edouard D. 2017-** Infections chez le patient immunodéprimé en hématologie Volume 23, numéro 3,
 17. **Bouchez écologie microbienne** (page 463)
 18. **BIENDO M., -2013-** Hygiène Hospitalière, Agents infectieux et Lutte contre les infections associées aux soins.
 19. **Petignat, C., DAMPH. -2005-** Infections nosocomiales Bases épidémiologiques, Techniciens en radiologie médicale (CHUV)
 20. **Blot F. Nitenberg G. Leclercq B. 2017-** Infections graves chez l'immunodéprimé en oncohématologie - EMC hématologie
 21. **Cherkaoui S., Lamchahab M., Hassoun S., Zerouali K.-2014-** Infections associées aux soins dans une unité d'hématologie-oncologie pédiatrique au Maroc. *Santé publique* volume 26/N° 2–mars–avril p. 199–204.
 22. **Raymond J, Aujard Y. -2000-** Nosocomial infections in pediatric patients : a European multicenter prospective study. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000 ; 21 : 260–3.

23. **Urrea M, Rives S, Cruz O, Navarro A, García JJ, Estella J.-2004-** Nosocomial infections among pediatric hematology/oncology patients: results of a prospective incidence study. *Am J Infect Control.* 32 : 205–8.
24. **Al-Tonbary YA, Soliman OE, Sarhan MM, Hegazi MA, El-Ashry RA, El-Sharkawy AA, et coll. -2011-**Nosocomial infections and fever of unknown origin in pediatric chemotherapy/oncology unit : a retrospective annual study. *World J Pediatr.* ; 71 : 60–4.
25. **Gaytan-Martínez J., Mateos-García E., Sanchez-Cortes E., Gonzales-Llaven J., Casanova-Cardiel LJ, Fuentes Allen JL, -2000-** Microbiological findings in febrile neutropenia, *Arch. Med. Res.* 31, 388–392.
26. **Cordonnier C., Buzyn A., Leverger G., Herbrecht R., Hunault M., Leclercq R. et coll. -2003-** Club de Réflexion sur les Infections en Onco-Hématologie Epidemiology and risk factors for gram-positive coccal infections in neutropenia : toward a more targeted antibiotic strategy, *Clin. Infect. Dis.*, 36, 149–158.
27. **Escande MC, Herbrecht R et coll. -1995-** Epidemiology of bacteraemia in hematology and oncology french units and comparative in vitro activity of cefpirome, cefepime and ceftazidime against isolated bacterial strains. Second International Symposium on Febrile Neutropenia. Bruxelles, 14–16 Décembre. Abstract 47.
28. **Feld R., Depauw B., Berman S., Keating A., Ho W., -2000-** Meropenem versus ceftazidime in the treatment of cancer patients with febrile neutropenia : arandomized, double-blind trial, *J. Clin. Oncol.*, 18, 3690–3698.
29. **Delfavero A., Menichetti F., Martino P., Bucaneve G., Micozzi A., Gentile G., et coll.- 2001-** Gruppo Italiano Malattie Ematologiche de l'Adulto (GIMEMA) Infection Program, A multicenter, double-blind, placebo-controlled trial comparing piperacillin-tazobactam with and without amikacin as empiric therapy for febrile neutropenia, *Clin. Infect. Dis.*, 33, 1295–1301.
30. **Winston DJ, Lazarus HM, Beveridge RA, Hathorn JW, GulcalpR., Amphal R., et coll.-2001-** Randomized, double-blind, multicenter trial comparing clinafloxacin with imipenem as empirical monotherapy for febrile granulocytopenic patients, *Clin. Infect. Dis.*, 32, 381–390.
31. **Kanamaru A., Tatsumi Y.-2004-** Microbiological data for patients with febrile neutropenia, *Clin. Infect. Dis.*, 39, S7–S10.
32. **Chen CY, Tang JL, Hsueh PR, Yao M., Huang SY, Chen et coll.-2004-** Trends and antimicrobialresistance of pathogenscausingbloodstream infections among febrile neutropenic adults with hematological malignancy, *J. Formos Med. Assoc.*, 103, 526–532.
33. **JM, Dybdahl B. et coll.-2005-** A multi-centre prospective study of febrile neutropenia in Norway : microbiological findings and antimicrobial susceptibility, *Scand. J. Infect. Dis.*37, 455–464.
34. **Bertrand X., Costa Y., Pina P.-2005-** Surveillance of antimicrobial resistance of bacteria isolated from blood stream infections: data of the French National Observatory for Epidemiology of Bacterial

Resistance to Antibiotics (ONERBA), 334.
1998–2003, *Med. Mal. Infect.*, 35, 329–

Profil cinétique du marqueur tumoral « PSA » : étude chez des patients atteints du cancer de la prostate au niveau du CLCC de Batna « A propos de deux cas cliniques »

Partie 2

Article original
PharmacologieN. Achachi¹, H. Chadou², D. Matmour², A. Kassah-Laouar¹, H. Toumi²¹Laboratoire Central de biologie Médicale CLCC – Faculté de médecine de Batna²Laboratoire de Recherche en Développement Pharmaceutique, Service de Pharmacovigilance, EHU 1^{er} Novembre, Faculté de Médecine d'Oran.Mail : nawel.ach@gmail.com

Résumé

La reconnaissance des marqueurs tumoraux, y compris le PSA (Prostatic Specific Antigen) dans le cancer de la prostate a un intérêt bien établi dans le suivi après traitement et dans la détection de récurrences.

L'utilisation de la cinétique de PSA, en plus de sa valeur absolue paraît très intéressante dans nombreuses situations cliniques, surtout après le développement des logiciels qui permettent le tracé rapide des courbes d'évolution des valeurs de PSA en fonction du temps en coordonnées semi-logarithmiques ainsi le calcul facile des paramètres cinétiques, ce qui facilite ainsi l'interprétation des résultats.

Notre étude a consisté, en premier lieu, en un recueil sur une fiche de renseignements des données démographiques, biologiques, cliniques et thérapeutiques des patients ayant traités au niveau du centre de lutte contre le cancer (CLCC) de Batna, puis de déterminer leurs profils cinétiques du PSA et de calculer les principaux paramètres cinétiques. Malheureusement, la majorité des profils cinétiques étaient difficiles à analyser à cause de l'incohérence entre les données recueillies et les paramètres déterminés. En effet, nous avons choisi deux profils qui paraissaient interprétables à présenter comme des cas cliniques dans cet article.

Mots clés : PSA, suivi après traitement, récurrences, cinétique, logiciels, courbes, paramètres cinétiques.

Abstract

The recognition of tumour markers, including PSA (Prostatic Specific Antigen) in prostate cancer, has a well-established interest in post-treatment follow-up and in the detection of recurrences.

The use of PSA kinetics, in addition to its absolute value, seems very interesting in many clinical situations, especially after the development of software that allows the rapid plotting of curves of PSA values evolution versus time in semi-logarithmic coordinates and the easy calculation of kinetic parameters, thus facilitating the interpretation of the results.

Our study consisted, firstly, in collecting demographic, biological, clinical and therapeutic data on a fact sheet of patients treated at the cancer centre of Batna, then determining their PSA kinetic profiles and calculating the main kinetic parameters. Unfortunately, the majority of the kinetic profiles were difficult to analyse because of the inconsistency between the data collected and the parameters determined. Indeed, we have chosen two profiles that seemed interpretable to be presented as clinical cases in this article.

Key words: PSA, post-treatment follow-up, recurrences, kinetics, software, curves, kinetic parameters.

1- Introduction

La cinétique du PSA a un intérêt dans des différentes situations cliniques : surveillance de tumeurs prostatiques après le diagnostic initial chez des patients fragiles ou ne souhaitant pas de traitement, facteur pronostic avant traitement curatif, évaluation de l'efficacité d'un traitement curatif, facteur pronostic de l'évolutivité néoplasique lors de la récurrence biologique après traitement curatif ou pendant une hormonothérapie [1].

2- Détermination et interprétation des paramètres cinétiques de PSA

2.1- Nadir et délai d'obtention du nadir de PSA

Le nadir est la concentration de PSA la plus faible atteinte après traitement.

Le nadir du PSA dépend d'un côté du type de traitement institué après prostatectomie radicale (100% des cellules prostatiques saines et tumorales détruites), le PSA doit être indétectable par les techniques ultrasensibles de dosage ; après radiothérapie, du fait de la persistance potentielle de quelques cellules normales sécrétrices, le seuil d'efficacité thérapeutique est situé à un niveau de PSA qui n'est pas indétectable mais le plus bas possible (inférieur à 0,5 ng/mL). Le nadir du PSA est atteint entre 1 et 3 mois après prostatectomie (mort cellulaire immédiate) et 1 à 3 ans après la fin de la radiothérapie (mort cellulaire différée secondaire à l'impossibilité des cellules irradiées à se renouveler).

D'un autre côté, le délai nécessaire pour atteindre le nadir dépend de la **concentration initiale** du PSA, de sa **vitesse de décroissance** après traitement et de

l'existence ou non d'un **effet rebond**. La littérature propose de multiples définitions de l'effet rebond qui diffèrent sur la valeur seuil d'élévation du PSA. Certaines définitions sont basées sur une élévation de PSA supérieure à 0,1 ng/mL ou 0,2 ng/mL suivie d'un retour spontané du PSA à l'état basal. D'autres études préconisent d'utiliser le seuil de 0,4 ng/mL, 0,5 ng/mL voire 2,0 ng/mL. Enfin, certaines définitions du rebond sont basées sur une élévation de PSA supérieure ou égale à 15% ou 35% par rapport à la dernière concentration de PSA mesurée. Il apparaît de façon formelle que plus bas est le nadir, meilleur est le pronostic. Un PSA qui reste stable sous cette valeur signe une situation de guérison. Le nadir de PSA peut ne survenir que tardivement, et pour le **délai d'obtention du nadir** est inversement corrélé avec la durée de la survie sans récurrence. Les délais médians sont courts lors de progressions métastatiques (de 10 à 12 mois), intermédiaires en cas de récurrences locales (de 17 à 20 mois) et allongés chez les patients sans progression (de 22 à 33 mois) [2]. En d'autres termes, une décroissance du marqueur qui se poursuit longtemps après la fin de la radiothérapie est de bon pronostic alors que la ré-augmentation précoce du marqueur est en faveur d'une progression métastatique.

2.2- Le temps de demi-vie de PSA

Quel que soit le type de décroissance du PSA après traitement, la décroissance initiale du PSA obéit au modèle mono-exponentiel dont l'équation est de la forme $PSA_t = PSA_0 \cdot e^{(-\lambda t)}$. Dans cette formule PSA_0 est la concentration pré thérapeutique de PSA, PSA_t la concentration de PSA mesurée au temps t et λ la pente de décroissance biologique du marqueur. La transformation logarithmique (logarithme népérien) des concentrations de PSA permet de linéariser le graphe tracé en coordonnées semi-logarithmiques. L'équation de la droite est alors $\ln [PSA_t] = -\lambda \cdot t + \ln [PSA_0]$ et $-\lambda$ représente la pente de cette évolution. Le temps de demi-vie du PSA est calculé selon la formule $T_{1/2} = \ln(2)/\lambda$, il correspond au temps nécessaire pour que la concentration sérique du marqueur diminue de moitié [3].

▪ Les temps de demi-vie de PSA_t après chirurgie sont de 3,2 j (+/- 0,09 j), et celui de PSA_1 est de 1,4 j (+/- 0,7 j). Après chirurgie tumorale macroscopiquement complète, une demi-vie allongée traduit la persistance d'une libération résiduelle de marqueur et l'échec du traitement radical ;

▪ L'intérêt pronostique sur la survenue de récurrences de la demi-vie du PSA après radiothérapie externe (en moyenne 1,6 mois) est controversé. Ceci tient essentiellement au fait que les études de demi-vies débutent trop tôt après la fin de la radiothérapie ;

▪ Après castration chirurgicale unedemi-vie du PSA inférieure à 15 jours serait de meilleur pronostic [2].

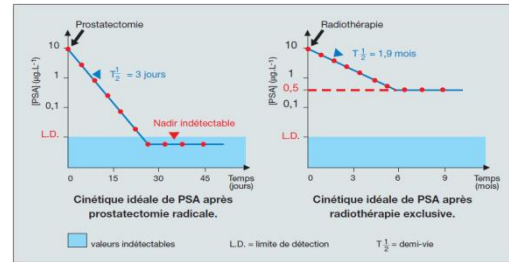


Figure 1. Cinétiques idéales de PSA[2].

2.3- Temps de doublement de PSA

Rapportée à la concentration sérique du PSA, l'évolution d'une tumeur ou de sa récurrence se traduit par une exponentielle croissante d'équation $PSA_t = PSA_0 \cdot e^{(\lambda t)}$. L'équation de la droite, après transformation logarithmique, est alors $\ln [PSA_t] = \lambda \cdot t + \ln [PSA_0]$ où λ représente la pente de cette évolution. Le temps de doublement du PSA, calculé selon la formule $T_d = \ln(2)/\lambda$ doit être exprimé en mois, sauf dans les stades très évolutifs de la maladie et les cas de prostatite où la semaine voire le jour peut s'avérer être une unité plus adaptée à la vitesse de croissance du marqueur [4]. Un point délicat concerne le nombre minimal de points exigible pour le calcul du temps de doublement et le délai optimal entre deux mesures. Un article récent préconise un minimum de 3 concentrations croissantes de PSA (augmentation supérieure à 0,2 ng/mL) avec un intervalle d'au moins 4 semaines entre chaque mesure pour identifier correctement une croissance exponentielle du marqueur et calculer son temps de doublement [2].

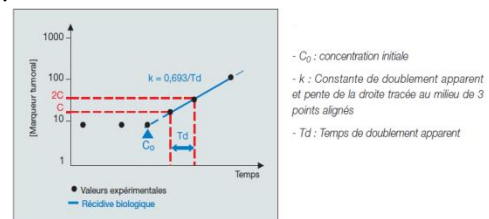


Figure 2. Méthode de calcul du temps de doublement [3].

3- Dépistage biologique d'une récurrence dans le cancer de la prostate

3.1- Après prostatectomie radicale

Après prostatectomie radicale, le PSA doit être indétectable, une récurrence locale se caractérisera par une augmentation lente ($TD > 11$ mois ; $vélocité < 0,75$ ng/mL/an) et tardive du PSA (> 2 ans). Cette récurrence aura d'autant plus de chance d'être locale que la pièce opératoire montrait initialement une atteinte capsulaire (ou des marges positives) ainsi qu'un score de Gleason inférieur à 7.

Une évolution métastatique se caractérisera par une augmentation précoce (< 2 ans) et rapide de PSA

(TD < 11 mois ; vélocité > 0,75 ng/mL/an). Cette évolution sera d'autant plus probable que l'examen histologique initial objectivait un envahissement des vésicules séminales ou ganglionnaires et une faible différenciation cellulaire. Dans ce contexte, une libération physiologique résiduelle de PSA liée à la présence d'un reliquat de tissu sain se traduirait par la persistance d'une concentration résiduelle de PSA détectable mais peu évolutive, voire non évolutive [2].

3.2- Après radiothérapie

Après radiothérapie externe, la valeur du PSA peut s'abaisser après un délai moyen d'un à deux ans jusqu'à une valeur inférieure à 1 ng/mL, prédictive de survie sans récurrence. Une récurrence biologique après radiothérapie, que celle-ci soit associée ou non à une hormonothérapie adjuvante, est définie par une valeur de PSA augmentant de 2 ng/mL ou plus au-dessus du nadir. Le délai de survenue de la récurrence et le temps de doublement du PSA après radiothérapie ont une valeur prédictive sur la nature du site, locale ou métastatique de la récurrence [3].

Après radiothérapie exclusive, l'élévation de PSA s'observe le plus souvent au cours de la seconde ou de la troisième année qui suivent l'irradiation. Même si la vitesse d'augmentation du PSA n'a pas une valeur prédictive absolue sur le type d'évolution, il semble qu'une croissance lente de PSA (TD moyen = 12 mois) témoignerait d'une récurrence locale alors qu'une croissance rapide suggérerait plutôt une dissémination métastatique (TD moyen = 3 mois) [2].

4- Patients et méthodes

Les profils cinétiques c'est-à-dire les courbes d'évolution du marqueur tumoral PSA (PSA total) tracées en coordonnées semi-logarithmiques avec le calcul de principaux paramètres cinétiques (le nadir, la demi-vie, et le temps de doublement) ont été effectués à l'aide du logiciel **CHA-TM KINETIC version 1.0.0**.

Cas clinique N°1

Il s'agit du patient N° 10 [4] âgé de 62 ans ayant un cancer de la prostate stade T3aN0M0 (non métastaté mais à risque élevé selon la classification d'Amico [5]), un score de Gleason de (3+4).

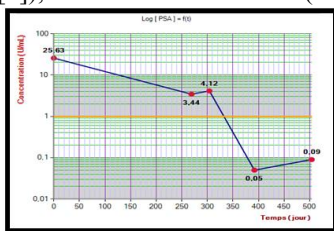


Figure 3. Profil cinétique de PSA chez le patient N° 10.

Ce patient a bénéficié d'un traitement à base d'hormonothérapie (Bicalutamide + Triptoréline LP), ensuite un traitement chirurgical après rechute.

L'analyse de la cinétique du PSA à indiquer :

Traitement par hormonothérapie :

Une C0 élevée : (> 20 ng/ml avec un score de Gleason de 3+4 et un stade T3a) correspond selon la classification d'Amico à un risque élevé et un taux de survie sans récurrence pendant 10 ans de 53.5% [6].

Une demi-vie élevée : la demi-vie de PSA après hormonothérapie était de **92.82 jours** qui est très élevée et qui indique une résistance au traitement.

Le nadir de PSA après hormonothérapie est atteinte **après 6 mois**, sa valeur est **3.44 ng/ml**, notant qu'après 6 à 9 mois d'hormonothérapie la valeur de nadir doit être inférieure à (0,2 ng/ml) et le pronostic devient défavorable si sa valeur dépasse 0.4 ng/ml ce qui est le cas pour ce patient. Ensuite le patient a rechuté et on observe une augmentation des valeurs de PSA et un **temps de doublement** d'environ **3 mois**. Notant qu'Après instauration d'une hormonothérapie, le TD de PSA permet d'évaluer l'efficacité du traitement. Il est de 7,5 mois en cas de maladie localisée alors qu'il passe à 2,5 mois au stade métastatique lorsque la tumeur devient hormone-résistante [2].

Traitement par chirurgie radicale :

Après rechute de l'chimiothérapie, le patient a bénéficié d'un traitement chirurgical.

L'analyse de la cinétique du PSA à indiquer :

Une chute des concentrations de PSA pour atteindre un **nadir de 0.05 ng/ml** qui est inférieur à la valeur limite (0.2 ng/ml) sa valeur reste inférieure à la limite plusieurs mois ce qui reflète l'efficacité du traitement chirurgical.

Cas clinique N°2

Il s'agit du patient N° 14 [4] âgé de 69 ans ayant un cancer de la prostate stade T1bN0M0 (non métastaté mais à risque élevé selon la classification d'Amico [5]), un score de Gleason de (3+4).

Ce patient a bénéficié d'un traitement chirurgical, ensuite un traitement adjuvant à base de radiothérapie a été instauré après rechute.

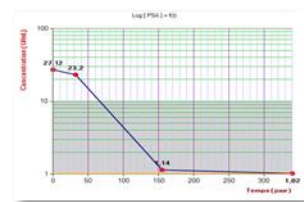


Figure 4. Profil cinétique de PSA chez le patient N° 14

L'analyse de la cinétique du PSA à indiquer :

Une C0 élevée : (> 20 ng/ml avec un score de Gleason de 3+4 et un stade T1b) correspond selon la classification d'Amico à un risque élevé et un taux de survie sans récurrence pendant 10 ans de 53.5% [6].

Une demi-vie élevée: la demi-vie de PSA était de **28.2 jours**. Notant qu'après prostatectomie totale, la demi-vie de PSA doit diminuer jusqu'à la valeur

de sa demi-vie d'élimination (2 à 3 jour), une demi vie élevée signifie une résistance au traitement ou d'autre façon, la persistance des cellules tumorales sécrétrice du PSA.

Un Nadir élevé : Après chirurgie, on observe une chute rapide de PSA pour atteindre le nadir (**1.14 ng/ml**), notant que la valeur du nadir après prostatectomie totale doit être inférieur à 0,2 ng/ml, une récurrence biologique après prostatectomie totale est définie par l'évolution des concentrations du PSA (au moins deux points) au-dessus de la valeur limite Nadir = 0,2 ng/ml) avec un risque de rechute de 86% après 1 ans et 100% après 3ans.PPL

L'instauration d'un traitement adjuvant à base de radiothérapie après l'échec thérapeutique a entraîné une diminution des concentrations du PSA pour atteindre un **nouveau nadir (1.02 ng/ml)** après. Selon l'étude de **Salomon et al 2010** [7], la valeur de nadir doit être < PSA nadir + 2 ng/ml après radiothérapie. Cependant, cette valeur peut ne survienne que tardivement (après 2 ans), des valeurs plus élevées indique une récurrence biologique et d'autre façon, l'échec de la radiothérapie.

5- Conclusion

L'interprétation des taux sériques de marqueurs fondée sur la notion de cinétique est plus sensible et pertinente que celle reposant sur la notion de seuil statistique dont la valeur n'est souvent adaptée ni à la nature du traitement institué, ni à l'objectif de précocité du signal, ni même aux réactifs ni à la technique de dosage utilisés.

L'utilisation de logiciels de cinétiques, permettant la trace automatique des courbes d'évolution des marqueurs tumoraux en fonction du temps et de calculer les paramètres qui en dérivent (la demi-vie, le nadir, le temps de dédoublement, etc).

Dans l'approche cinétique, chaque patient est son propre témoin et toute nouvelle concentration de marqueur tumoral est interprétée en fonction de la valeur précédente et les valeurs des paramètres cinétiques calculés, tout en prenant en considération la nature du traitement instauré[2].

Déclaration d'intérêts L'auteur déclare ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

D'autres critères de jugement secondaires sont nécessaires à l'interprétation des résultats, tel que l'âge, la classification TNM, le score de Gleason, etc.

Bibliographie

1. **Ruffon A, Rebillard X., Grima F. 2005.** Temps de doublement du PSA et son calcul. Prog Urol ; 15 :1035-1041
2. **Riedinger JM., Eche N., Basuyau JP., Pichon MF. 2005.** Les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides. Cahier de formation BIOFORMA n° 32. Paris : EGOPRIM.
3. **Riedinger JM., Eche N., Bachaud JM., Crehange G, Fulla Y, Thuillier F. 2009.** Cinétique de PSA après radiothérapie. Ann Biol Clin ; 67 (4) : 395-404.
4. **Achachi N., Chadou H., Matmour D., Kassah-Laouar A., Toumi H. -2020-** Profil cinétique du marqueur tumoral « PSA » : étude chez des patients atteints du cancer de la prostate au niveau du CLCC de Batna. Rev. Auras Lab. (1)3. :79-84 ISSN : 2716-7879.
5. **Haute Autorité de Santé (HAS). 2012.** Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique : Cancer de la prostate. Guide - affections de longue durée.
6. **Rizk J., Ouzzane A., Flamand V., Fantoni JC., Puech P., Leroy X., Villers A. 2015.** Survie sans récurrence biologique à long terme après prostatectomie totale pour cancer : analyse comparative selon la voie d'abord et le stade clinico-pathologique. Progrès En Urologie, 25(3), 157-168.
7. **Salomon L., Azria D., Bastide C. 2010.** Recommandations en onco-urologie : cancer de la prostate. Prog Urol ; 4 : S217-S252.

Terminologie du mot Pandémie à travers les siècles



A. KASSAH-LAOUAR

LCBM-CLCC-Batna-Laboratoire GRIAS
prkassah@yahoo.fr

Microbiologie clinique

1-Généralités.

Compte tenu des nombreuses définitions présentes dans la littérature, il est nécessaire de bien cerner les différentes notions en termes de risque utilisées dans cette note, à savoir la différenciation entre le Risque Endémique, le Risque Epidémique et le Risque Pandémique. Ces trois termes « endémie », « épidémie » et « pandémie » appartiennent au vocabulaire de l'épidémiologie. Ils ont leur équivalent dans le domaine des maladies animales, parfois transmissibles à l'homme

2-Un mot d'Histoire pour le mot « Pandémie »

2.1 Première utilisation en 1666

La première apparition du mot pandémie remonte à 1666. Le médecin Gideon Harvey (1636/7–1702), né aux Pays-Bas, l'emploie dans le premier chapitre intitulé *On the original, contagion, and frequency of consumptions* de son ouvrage *Morbus Anglicus* édité en 1666 à Londres. Il écrit : « a Pandemick, or Endemick, or rather a Vernacular Disease (a disease alwayes reigning in a Countrey)

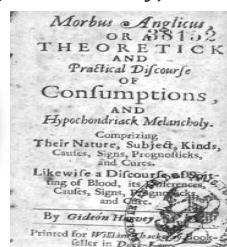


Figure-1- Docteur Gideon Harvey **Figure 2–** Ouvrage *Morbus* (1636/7–1702)*Anglicus*

Bien que Harvey rédige son ouvrage seulement un an après la grande peste, il mentionne le terme « pandémie » dans un écrit sur la phtisie (*consumption*), terme obsolète désignant la tuberculose pulmonaire. Pour Harvey et ses contemporains, la peste n'est qu'une « pestilence ». En français, le mot pandémie apparaît dans l'édition de 1752 du *Dictionnaire universel françois et latin*, vulgairement appelé *Dictionnaire de Trévoux*, ainsi que dans le dictionnaire de l'Académie de 1762. Il est alors considéré comme un synonyme d'épidémie. Quant au Larousse du XIX^e siècle, il en donne la définition suivante : « maladie qui s'attaque à presque tous les habitants d'une contrée

PANDÉMIE. f. f. *Pandemia*. C'est la même chose qu'*épidémie*. Ce mot est Grec, *πανδημία*, composé de *παν*, tout, & de *δῆμος*, peuple, parce que c'est une maladie qui se répand sur tout le peuple.

Figure 3–Dictionnaire de Trévoux, édition de MDCCLXII (1752). Tome troisième

Outre-Atlantique, il faudra attendre plus longtemps avant de voir le terme *pandemic* entrer dans un dictionnaire, en l'occurrence celui de Noah Webster (1758-1843).



Figure 4-Noah Webster (1758-1843)

Ce dernier est en effet bien plus que le célèbre lexicographe qui a réformé l'orthographe et la prononciation. Il publie en 1783, à l'intention des écoles américaines son célèbre *The American Spelling Book*, qui constitue le premier volume de son *Grammatical Institute of the English Language*.



Figure 5 - *The American Spelling Book*

Webster a exercé durant sa vie les métiers de maître d'école, d'avocat, de directeur d'école, de journaliste, de publiciste, d'éditeur, de législateur, mais aussi d'épidémiologiste entre 1796 et 1802.

Dans ce domaine, sa plus grande contribution porte sur la fièvre jaune. Son intérêt pour cette maladie hémorragique aiguë qui provoque une jaunisse chez certains patients (d'où le terme « jaune ») tient au fait qu'une épidémie de fièvre jaune ravagea Philadelphie en 1793. Cette ville paie alors un lourd tribut, avec 5000 victimes, soit 10 % de sa population. L'épidémie de fièvre jaune frappe les villes de la côte Est des Etats-Unis entre 1793 et 1797.

Webster a par ailleurs été le témoin d'une épidémie de grippe en Nouvelle-Angleterre en 1789 et 1790, ainsi que d'une épidémie de scarlatine en 1793. Il observe nuit et jour les symptômes de ses propres enfants atteints de cette maladie.

Le 31 octobre 1795, Webster écrit à des médecins résidant aux quatre coins des Etats-Unis (Philadelphie, New York, Baltimore, Norfolk, New Haven) pour leur demander de lui fournir des renseignements et des chiffres précis. Objectif : élucider l'origine de la fièvre jaune afin de déterminer si la source est « *importée ou domestique* » et pouvoir prendre les bonnes décisions pour éviter sa réémergence.

Plus généralement, l'intérêt de Webster pour l'épidémiologie est motivé par des considérations humanitaires et son désir de comprendre l'origine des maladies afin de les prévenir et les contrôler. Webster souhaite compiler les faits pour les étudier de façon rationnelle afin qu'une réponse puisse émerger. Selon lui, « *Les théories sont peu utiles, mais les faits sont d'une importance infinie ; et nous considérons chaque nouveau fait ou observation sur le sujet des maladies pestilentiels comme méritant une attention particulière* ».

Webster entretient par ailleurs une correspondance régulière avec d'éminents professeurs de médecine. Il recueille également le témoignage de marins et autres personnes qui ont quelques connaissances sur les maladies épidémiques du fait de leur vécu personnel. En 1798, il accumule une impressionnante littérature sur les épidémies à travers le monde lors de ses visites dans des bibliothèques publiques de New York, Philadelphie, New Haven, Boston.

En décembre 1799, il publie *A brief history of epidemic and pestilential diseases*, deux volumes qui résument parfaitement tout ce que l'on peut lire alors sur les faits historiques et les théories sur les épidémies. Pour William Osler (1849-1919), célèbre médecin qui exerça au Canada, aux États-Unis et en Angleterre, cet ouvrage « *est le plus grand livre médical écrit dans ce pays par un profane* ».

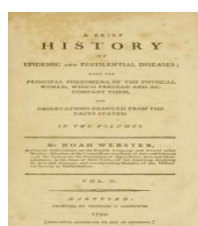


Figure 6- A brief history of epidemic and pestilential diseases

2.2- En 1828 dans le dictionnaire de Webster

Celui qui n'a jamais exercé en tant que médecin car n'ayant pas de diplôme de docteur en médecine est aujourd'hui considéré comme le père de l'épidémiologie aux Etats-Unis. Pour Noah Webster : « *La recherche des causes des maladies et les moyens de soulager les calamités de la vie est l'affaire de tout bon citoyen, quelle que soit sa profession* ».

Bien qu'ayant vécu à l'âge adulte la pandémie de grippe de 1789-90, Webster ne mentionne pas dans

son dictionnaire la grippe pandémique mais seulement la grippe épidémique. De fait, au début du 19e siècle, le terme *epidemic* signifie autant épidémie que pandémie, ce dernier tombant de plus en plus en désuétude.

C'est en 1828 que le mot *pandemic* (pandémie) fait son entrée dans un dictionnaire en langue anglaise : *An American Dictionary of the English Language* de Noah Webster. L'ouvrage, qui renferme plus de 70 000 mots, indique cependant que les termes *epidemic* et *pandemic* sont synonymes.

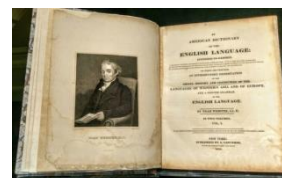


Figure 7- An American Dictionary of the English Language

Il faudra attendre la pandémie de choléra de 1831-1832 pour que la presse populaire accorde pour la première fois, quotidiennement et pendant plus d'un an, une large place à la propagation mondiale d'une maladie infectieuse. Celle-ci progresse inexorablement vers l'Europe à partir de l'Asie par l'intermédiaire des voyages ferroviaires et des routes commerciales.

* Noah Webster avait fini par être convaincu – à tort – que la théorie de la contagion (via une substance toxique, chimique ou biologique transmise de personne à personne ou par des objets inertes) n'était pas tenable. Selon lui, les flambées épidémiques de fièvre jaune trouvaient sans doute leurs origines dans des facteurs environnementaux (atmosphériques, climatiques). En effet, on pense à l'époque que les épidémies sont notamment associées aux météorites, comètes, éruptions volcaniques, tremblements de terre. Pour les tenants de la théorie de la contagion, une quarantaine devait être appliquée. En revanche, pour les partisans de la théorie selon laquelle les épidémies avaient pour origine des conditions atmosphériques et des facteurs locaux, le nettoyage de l'environnement s'imposait mais pas la quarantaine des personnes et des marchandises. On sait aujourd'hui que la fièvre jaune est une maladie virale dite vectorielle car transmise par des moustiques infectés

2.3- « Pandémie », un mot entré dans le langage courant

La notion de pandémie fait son chemin dans les esprits, tant et si bien que lorsque la pandémie de grippe de 1889 survient, le concept de pandémie existe déjà. Le terme *pandemic*, jusqu'alors vague, imprécis et peu usité, sort de l'ombre et s'impose pour décrire l'émergence d'une épidémie de grippe à l'échelle mondiale, comme en témoigne un article publié en 1894 dans la revue médicale britannique

The Lancet et comportant le mot pandémie dans son titre.



Figure 8- Clemow F. Lancet 1894; 1:139-43, 329-31.

La pandémie de grippe de 1889 en Russie semble avoir contribué à forger le sens du mot pandémie. La « grippe russe » est alors très suivie par la presse.

En 1918, la « grippe espagnole » tue environ 50 millions d'individus dans le monde. Le terme pandémie devient alors un mot assez courant. Celui-ci va rapidement dériver jusqu'à désigner tout phénomène de grande ampleur, telles que des infections non grippales et maladies chroniques associées au mode de vie. C'est ainsi que l'on en est venu à parler de pandémie concernant le tabagisme, la mortalité par accident de la route, l'obésité, et même les fermetures d'usines ou la contagion de certaines peurs. Dès lors, une pandémie ne désigne plus seulement une épidémie qui affecte « tout » le monde, mais un événement médiatique mondial. Dans le même temps, du fait d'un meilleur contrôle des pandémies majeures que sont le choléra et la peste, le terme pandémie se trouve associé à des événements contemporains plutôt qu'historiques.

2.4- Définition absente de textes de référence

Au cours des deux dernières décennies, nombreuses sont les publications médicales qui ne prennent pas la peine de proposer une définition de ce terme. Même les textes faisant autorité sur les pandémies ne le mentionnent pas dans leurs index, qu'il s'agisse d'ouvrages entièrement consacrés à l'histoire de la médecine, de traités d'épidémiologie, de rapports officiels sur les maladies infectieuses émergentes, comme celui de l'Institute of Medicine en 1992 aux Etats-Unis ou celui du Sénat sur les nouvelles menaces de maladies infectieuses émergentes en 2012 en France.

Il faudra par ailleurs attendre 2011 pour que le mot *pandemic* entre dans le thesaurus des mots clés (MeSH) de la base de données biomédicales PubMed de la National Library of Medicine (Bethesda, Maryland, États-Unis).

On le voit, il n'existe pas de définition claire et unanimement acceptée du terme pandémie, alors même que le monde a connu l'émergence de fléaux infectieux majeurs tels que la grippe, la peste, le choléra, la dengue, le sida, la gale, la maladie du Nil occidental (*West Nile disease*), le SARS

(syndrome respiratoire aigu sévère) et aujourd'hui la maladie Covid-19 (pour *CoronaVirus Disease 2019*

3- Que veut dire le mot pandémie ?

3.1- ÉTYMOLOGIE

Composé de *pan-* et de *-démie*, comme une espèce de superlatif d'*épidémie*. Du grec ancien *πανδημία*, *pandēmía* (« le peuple tout entier »), composé de *πᾶν*, *pân* (« tout ») et *δῆμος*, *dêmos* (« peuple »). Le mot « pandémie » est employé pour la première fois en anglais (« *pandemic* ») en 1666 par le médecin britannique Gideon Harvey dans son livre sur la tuberculose, *Morbus Anglicus, or the Anatomy of Consumptions* ; il n'apparaît en français qu'en 1752 dans le *Dictionnaire de Trévoux*.

Πανδημία, la réunion de tout le peuple, de *πᾶς*, tout, et *δῆμος*, peuple.

3.2- Définition

La définition du terme pandémie est à géométrie variable selon les ouvrages d'épidémiologie. Il n'existe pas de définition unique, précise et quantifiée de ce phénomène, la pandémie peut néanmoins se décrire succinctement comme étant une épidémie de « grande ampleur », « une forme d'épidémie s'étendant à un continent, voire à la terre entière », « une épidémie sur une vaste zone, affectant généralement une grande partie de la population et s'étendant ou survenant largement sur une région, un pays un continent ou à l'échelle mondiale ». On parle donc de pandémie lorsqu'une maladie se répand à très grande échelle. La définition donnée à ce terme par l'OMS (Organisation mondiale de la santé) a varié à plusieurs reprises. Actuellement il est admis que, pour parler de pandémie, la maladie doit toucher au moins deux continents.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), une pandémie est une épidémie qui doit respecter les critères suivants :

- maladie infectieuse causée par un agent pathogène nouveau ou qui ne s'est pas manifesté depuis longtemps,

- cet agent pathogène, ayant développé la capacité de se transmettre durablement d'un sujet à un autre, provoque des flambées épidémiques de grande ampleur géographique.

Une maladie ne constitue pas une pandémie du seul fait qu'elle est répandue ou qu'elle entraîne la mort de plusieurs personnes. Elle doit également être infectieuse. Le graphique ci-après présente les différentes phases d'une pandémie selon l'OMS.

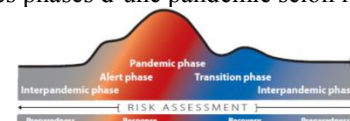


Figure 9- : Les phases pandémiques selon l'OMS (source : Pandemic Influenza Risk Management, WHO Interim Guidance, 2013)

Un phénomène à propagation rapide :

Le critère de vitesse de développement de l'agent pathogène est primordial car il doit s'être répandu avant qu'un remède et des moyens de prévention efficaces ne soient trouvés.

Un phénomène à l'impact exceptionnel mais pas nécessairement virulent : La généralisation d'une épidémie à l'échelle mondiale engendre bien évidemment une augmentation rapide et drastique du nombre de malades, provoquant d'importantes perturbations économiques et sociales, ainsi qu'une forte demande en soins pouvant amener à la saturation des services de santé et hospitaliers.

Pour mesurer son impact, on distingue généralement trois taux :

- le taux d'attaque, qui rapporte le nombre de personnes infectées à la fin de la pandémie à la population totale,
- le taux de létalité, qui rapporte le nombre de décès au nombre de personnes infectées, mesurant ainsi la virulence de la maladie,
- le taux de surmortalité, qui rapporte le nombre total de décès dus à la pandémie (et donc en excès de ceux qu'on aurait observés en l'absence de pandémie) sur la population totale, et qui est donc le produit des deux taux précédents.

3.3- Exemples : fréquence des pandémies grippales dans le temps

Pandémies grippales Si, depuis le début du XXème siècle, on décompte quatre pandémies grippales (1918, 1957, 1968, et 2009), l'historique à plus long terme reste assez flou, faute d'éléments chiffrés fiables.

En effet, le nombre de pandémies connues diffère d'un spécialiste à l'autre selon le périmètre retenu. Ainsi, certains considèrent 32 pandémies sur les 430 dernières années, soit une probabilité annuelle d'occurrence de 7.4%, là où Ghendon en dénombre 14 sur 310 ans, donc une probabilité de 4.5% annuelle. Ce dernier chiffre est cohérent avec les estimations 2007 de Swiss Re.

Enfin, on notera une probabilité annuelle de 2.3% donnée par Potter, qui recense 10 pandémies depuis 1580. Ainsi, ce "panel" de pandémie permet, dans une certaine mesure, d'étudier les phénomènes observés ainsi que leurs causes/conséquences. On présente les 4 pandémies grippales des cent dernières années :

1918 : Grippe d'origine aviaire inconnue de l'homme. Faits marquants : Mortalité en "W" plutôt qu'en "U" la grippe espagnole a été particulièrement violente parmi la population des 20-40 ans. Explication possible : Les populations plus anciennes avaient connu la pandémie de 1889, et ont ainsi probablement pu résister plus efficacement aux effets de H1N1.

1957 : Echange de matériel génétique entre plusieurs virus grippaux connus de l'homme : virulence moindre. Cette grippe dite asiatique est également d'origine aviaire (H2N2).

1968 : Grippe de Hong-Kong (H3N2) : évolution de la souche de la grippe asiatique de 1957. La première pandémie de l'ère moderne, des transports aériens de masse.

2009 : Grippe A (H1N1) : réassortiment génétique de virus grippaux d'origine aviaire, humaine et porcine. Sa propagation aura été rapide, du fait que sa forme n'avait jamais été observée auparavant : Juin 2009 pandémie déclarée par l'OMS.

Sans oublier la pandémie actuelle Covid-19 fin de l'année 2019

4- Caractéristique d'une pandémie

Selon l'OMS, la pandémie se définit par sa dimension intercontinentale et peut être analysée selon six phases dans le cas de la grippe.

Phase 1 : aucun cas d'infection chez l'homme due à un virus circulant chez les animaux n'a été signalé.

Phase 2 : on sait qu'un virus grippal animal circulant chez des animaux domestiques ou sauvages a provoqué des infections chez l'homme et il est de ce fait considéré comme constituant une menace potentielle de pandémie.

Phase 3 : un virus grippal réassorti animal ou animal-humain a été à l'origine de cas sporadiques ou de petits groupes de cas de maladie dans la population, mais n'a pas entraîné de transmission interhumaine suffisamment efficace pour maintenir les flambées à l'échelon communautaire.

Phase 4 : la transmission interhumaine d'un virus grippal réassorti animal ou animal-humain capable de provoquer des flambées à l'échelon communautaire a été vérifiée.

Phase 5 : le virus identifié a provoqué des flambées soutenues à l'échelon communautaire dans au moins deux pays d'une même région OMS.

Phase 6 : outre les critères définis pour la phase 5, le même virus a provoqué des flambées soutenues à l'échelon communautaire dans au moins un pays d'une autre région de l'OMS.

Cette définition n'est pas gravée dans le marbre. L'OMS elle-même ne l'a adoptée qu'il y a quelques années.

5- Quelle est la différence entre une endémie, épidémie et pandémie ?

La différence entre une endémie, épidémie et une pandémie tient à l'expansion géographique de la maladie concernée. Une épidémie touche un territoire plus localisé, comme une région ou un pays, alors qu'une pandémie est à beaucoup plus grande échelle.

De nos jours, lorsqu'une maladie se répand à grande échelle, c'est l'Organisation mondiale de la santé (OMS) qui déclare officiellement l'état de

pandémie. En mars 2020, l'état de pandémie a été déclaré pour la maladie Covid-19.

5.1- L'endémie

L'endémie se définit par la présence habituelle d'une maladie, en générale infectieuse, dans une population déterminée ou une région précise, avec une incidence stable : le paludisme est endémique dans de nombreux pays africains, l'hépatite A est endémique en Thaïlande, ce qui implique la nécessité de se faire vacciner avant de se rendre dans ce pays. Pour rappel, l'incidence d'une maladie correspond au nombre de nouveaux cas survenant pendant une période donnée.

5.2-L'épidémie

Une épidémie se définit par la croissance rapide de l'incidence d'une maladie dans une région donnée et pendant une période spécifique. Rappelons que l'incidence d'une maladie correspond au nombre de nouveaux cas survenant pendant une période donnée. C'est, avec la prévalence, une des deux manières d'exprimer la fréquence de survenue d'un événement.

Initialement, le terme d'épidémie ne concernait que les maladies infectieuses, comme la variole autrefois, le SIDA ou la fièvre hémorragique due au virus Ébola actuellement, et la grippe tous les ans depuis fort longtemps. Depuis le début du XXIème siècle on assiste à l'émergence d'épidémies dues à un nouveau type de virus, les coronavirus.

L'épidémie se propage du fait de la grande contagiosité de la maladie transmissible incriminée (rappelons que toutes les maladies infectieuses ne sont pas contagieuses).

L'adjectif épidémique a deux contraires : endémique, que nous venons de voir, et sporadique, qui signifie occasionnel, ou au cas par cas.

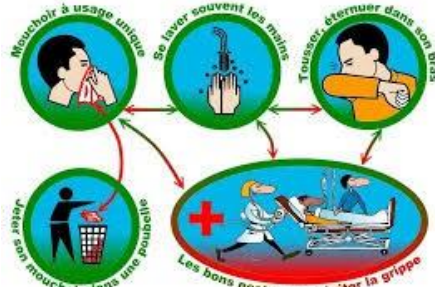


Figure 10- Mode de prévention de la transmission des virus respiratoires

5.3-La pandémie

Le terme « pandémie » est formé des particules grecques pân (« tout ») et demos (« peuple »), désignant littéralement une maladie affectant « le peuple tout entier ».

Si les définitions s'accordent sur un point, en l'occurrence celui de considérer qu'il s'agit d'une grande épidémie, elles ne précisent pas pour autant si celle-ci est sévère, explosive, voire nouvelle. Pour l'Organisation mondiale de la santé, ce caractère de nouveauté prime. En effet, selon

l'OMS : « on parle de pandémie en cas de propagation mondiale d'une nouvelle maladie ».



Figure 11- exemple de pandémie

6-Caractéristiques communes aux pandémies

« Il est cependant possible d'identifier plusieurs caractéristiques clés s'appliquant à toutes, si ce n'est quasiment toutes, les pandémies », soulignaient David Morens, Gregory Folkers et Anthony Fauci dans un article intitulé *What is a Pandemic?* et publié dans le *Journal of Infectious Diseases* en 2009.

Tout d'abord, la vaste extension géographique. Le terme « pandémie » désigne généralement des maladies qui s'étendent sur de vastes zones géographiques – par exemple, la peste du XIVe siècle (la peste noire), le choléra, la grippe et le virus de l'immunodéficience humaine (VIH/sida). Les pandémies peuvent notamment être classées comme trans-régionales lorsqu'elles touchent au moins deux régions adjacentes, inter-régionales (au moins deux régions non contiguës) ou mondiales. En 2009, 178 pays ont ainsi été concernés par l'infection au virus grippal H1N1. Aujourd'hui, la pandémie au nouveau coronavirus s'est étendue dans plus de 160 pays.

Autre caractéristique majeure : le déplacement de la maladie. En plus de l'extension géographique, la plupart des utilisations du terme « pandémie » impliquent un mouvement ou une propagation inattendue de la maladie par le biais d'une transmission qui peut être tracée d'un endroit à l'autre. Parmi les exemples de mouvements de maladies : la propagation de personne à personne de maladies causées par des virus respiratoires (grippe, SRAS, Covid-19) ou une bactérie (*Vibrio cholerae*), ou par des insectes tels que les moustiques du genre *Aedes* (*A. aegypti* et *A. albopictus*), vecteurs de la dengue.

« Le terme pandémie a été utilisé le plus souvent pour décrire des maladies nouvelles, ou du moins associées à de nouvelles variantes d'organismes existants – par exemple, les changements antigéniques qui se produisent dans les virus influenza [grippe], l'émergence du VIH/sida lorsqu'il a été reconnu au début des années 1980, les épidémies historiques de maladies, comme la peste », soulignent les auteurs de l'article publié dans le *Journal of Infectious Diseases*. Et d'ajouter : « La nouveauté est cependant un concept relatif. Il y a eu sept pandémies de choléra au cours des 200 dernières années, probablement toutes causées par des variantes d'un même organisme ».

Les pandémies se caractérisent également par des taux d'attaque élevés et par une propagation exponentielle, c'est-à-dire par la survenue d'un très grand nombre de cas en peu de temps. Cette caractéristique épidémiologique est propre à la fois aux infections ayant pour origine une même source et des maladies hautement contagieuses et à incubation courte, comme par exemple, la peste au 14^{ème} siècle, le choléra en 1831-1832, la grippe en de nombreuses occasions, le Covid-19.

Autre facteur : l'immunité initiale de la population vis-à-vis de l'agent infectieux sachant que l'immunité collective représente un rempart contre la pandémie. Néanmoins, l'immunité de groupe n'est qu'un concept relatif comme cela a été montré dans certaines pandémies de choléra et de grippe associées à de nouveaux sous-types ou souches ayant subi des mutations génomiques caractéristiques. Les biologistes parlent alors de glissement antigénique (*antigenic drift*). Le risque pandémique est ainsi important s'il s'agit d'un tout nouveau virus que le système immunitaire humain n'a jamais rencontré auparavant.

7- Contagiosité et nouveauté

La contagiosité et la sévérité de la maladie infectieuse sont d'autres caractéristiques clés. En effet, un grand nombre, sinon la plupart, des maladies infectieuses considérées comme pandémiques sont la conséquence d'une transmission inter-humaine. Le mode de contamination de personne à personne peut cependant ne pas être le seul dans d'autres maladies pandémiques, comme pour la peste (transmission par les puces) et le choléra (transmission environnementale par l'eau ou des aliments contaminés).

En résumé, il apparaît donc que le terme « pandémie » a une longue histoire. Quant au concept de pandémie, il concerne des maladies infectieuses très différentes, survenues sous la forme d'événements mondiaux au fil des siècles. Un seul dénominateur commun aux pandémies reste invariable : une vaste extension géographique, même si une propagation rapide et des taux d'attaque élevés sont souvent observés.

Une autre caractéristique apparaît désormais évidente de nos jours : quand une pandémie survient, le reste du monde le sait immédiatement.

Pour en savoir plus.

1. **Clemow F. -1894-**The recent pandemic of influenza: its place of origin and mode of spread. *Lancet*; 1:139-43, 329-31.
2. **Doshi P. -2011-**The elusive definition of pandemic influenza. *Bull World Health*

Organ. Jul 1;89(7):532-8. doi: 10.2471/BLT.11.086173

3. **Ebola Contingency Scenario** Cambridge Centre for Risk Studies; **-2015-**Cambridge Risk Framework Working Paper 2014.11.01 Quantifying Pandemic Risk SOA/ *The actuary magazine* March 2015
4. **Faulds G. -2009-**Institut des actuaires canadiens **-2009-**Considérations relatives à l'élaboration d'un scénario de pandémie Tyrone G. Faulds, président Direction de la pratique actuarielle Wallace Bridel, président Commission sur la gestion des risques et le capital requis Octobre 2009
5. **Y.Ghendon Y.-1991-***Bulletin de l'Organisation mondiale de la Sante*,9(6):649-656(1991
6. **Lazzari, S., & Stöhr, K. -2004-** Avian influenza and influenza pandemics. *Bulletin of the World Health Organization*.
7. **Linfoot, A. -2007-** Financing Catastrophic Risk: Mortality Bond Case Study. *ScottishRev*.
8. **Mandhouj K. -2010-** Analyse du Risque Catastrophe d'une Pandémie en Assurance Prévoyance par une Approche Épidémiologique Mémoire d'Actuariat
9. **Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. - 2009-**What is a pandemic?*J Infect Dis*.Oct 1;200(7):1018-21. doi: 10.1086/644537
10. **Morens DM, Taubenberger JK. -2011-**Pandemic influenza: certain uncertainties. *Rev Med Virol*.Sep;21(5):262-84. doi: 10.1002/rmv.689
11. **Neis C. -2006-**Webster, Noah (1758-1843). *Encyclopedia of Language & Linguistics* (Second Edition).Pages 540-542.

12. **Mutation des virus et gestion des pandémies - l'exemple du virus A (H1N1)**
<https://www.senat.fr/rap/r09-307/r09-3076.html>
13. **Polman P. Bernaert A.-2014-** Méthodologie et Données communes Groupe de travail Evénements Extrêmes APREF vendredi 24 Octobre 2014 World Economic Forum Managing the Risk and Impact of Future Epidemics: Options for Public-Private
14. **Rosen G. -1965-**Noah Webster, historical epidemiologist. *J Hist Med Allied Sci.*Apr;20:97-114.
15. **Speisser R. 2013-** Evaluation du risque de pandémie et construction de deux modèles internes partiels en assurance de personnes dans le cadre de Solvabilité 2. Mémoire d'Actuariat
16. **Thoms H. -1958-**Noah Webster; epidemiologist. *J Am Med Assoc.* Nov 29;168(13):1804-5.
17. **Toole J.-2007-** Potential Impact of Pandemic Influenza on the U.S. Life Insurance Industry Jim Toole, FSA, MAAA Mai 2007
18. <https://www.littre.org/definition/pand%C3%A9mie>
19. <https://fr.wiktionary.org/wiki/pand%C3%A9mie>

Association de Microbiologie Clinique des Aurès « AMICA »

Avis

Bonjour chers amis et collègues.

Le président de l'association ainsi que tous les membres fondateurs ont le plaisir de vous annoncer la naissance de votre association scientifique, Association de Microbiologie Clinique des Aurès (AMICA).

A cet effet nous invitons tous nos amis biologistes de nous prêter contribution et main forte quant à la réussite dans sa mission.

AMICA héberge tous les biologistes de la région sans distinction.

Adhérer à votre association **AMICA**



Coloration de Gram : Protocole et intérêt dans le diagnostic bactériologique



S. Boubidi¹, Ahmed Kassah-Laouar¹
LCBM, CLCC-Batna
dr.souhaboubidi@gmail.com

Microbiologie clinique

Résumé : La coloration de Gram qu'elle se fasse manuellement ou grâce à un colorateur est une étape incontournable mais aussi critique en bactériologie qui contribue à la fois au diagnostic clinique et à l'orientation thérapeutique. Il s'agit d'une méthode de type qualitatif et présente la coloration de référence en bactériologie. Cet article présente le principe de la coloration de Gram et son utilité dans le cadre de diagnostic bactériologique.

Mots clés : Paroi bactérienne, Gram positif, Gram négatif, examen direct.

Summary : Gram staining manually made or in a automated way is an inescapable but also critical stage in bacteriology which contributes at the same time to the clinical diagnosis and to the therapeutic orientation. It is about a qualitative method which present the reference staining in bacteriology . This item present the principle of Gram staining and its use in bacteriological diagnosis .

Keywords : Bacterial wall , Gram positive , Gram negative , direct examination .

1- Introduction :

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (technique de l'état frais), ou bien après coloration de l'échantillon, ou encore après réaction d'immunofluorescence. Cet examen renseigne sur la présence de bactéries confirmant l'origine bactérienne d'une infection, ce qui représente un élément majeur pour une prise en charge thérapeutique adaptée. Ainsi, cet examen oriente sur une famille ou un genre bactérien, permettant de bien choisir un milieu de culture et d'adapter ou de modifier une antibiothérapie.

Les techniques les plus communément utilisées au laboratoire de bactériologie médicale font appel à des colorations sur une préparation fixée sur une lame. Plusieurs types de coloration existent.

- ✓ Les colorations non différentielles : anciennes, peu utilisées en pratique, colorent toutes les bactéries de la même façon sans distinction, si ce n'est qu'elles permettent de mieux visualiser les morphologies bactériennes et de préciser les agencements des bactéries les unes avec les autres.
- ✓ Les colorations différentielles : distinguent les bactéries en fonction de la structure de leur

paroi. Deux colorations de référence sont employées :

- La coloration de Gram distinguant bactéries à Gram positif et bactéries à Gram négatif,
- Et la coloration de Ziehl-Neelsen mettant en évidence les bacilles acido-alcool-résistants. [1]

2- Historique :

D'une modestie à toute épreuve, **Hans Christian Joachim Gram** (fig. 1), avant de faire paraître son article sur la méthode de coloration des bactéries dans « *Fortschritte der Medizin* », le 25 juillet 1884, crut bon de prévenir : « Je publie cette méthode en étant conscient qu'elle est imparfaite et défectueuse ; mais j'ai espoir qu'elle se révèle utile dans les mains d'autres expérimentateurs. ».



Figure 1- Hans Christian Joachim Gram
(1853-1938)

Le pathologiste et pharmacologue danois, né le 13 septembre 1853 à Copenhague, n'imaginait donc

pas alors que sa méthode allait devenir la plus employée en bactériologie médicale.

Au début, Gram s'était intéressé aux sciences naturelles, diplômé de la *Copenhagen Metropolitan School* en 1871 et assistant du botaniste et zoologiste Japetus Steenstrup de 1873 à 1874 ; à cette date, il commence des études de médecine et obtient son doctorat en 1878. Interne puis médecin résident à l'hôpital municipal de Copenhague, Gram soutient avec succès sa thèse sur la dimension de l'érythrocyte en 1883. [2, 3].

En plus de sa mise au point de la coloration qui porte son nom (Gram), Il a décrit un syndrome qui porte son nom: apparaissant après la ménopause, associant une adipose, l'arthrite déformante de l'articulation du genou et l'HTA (hypertension artérielle).

En 1891 Gram fut nommé professeur de pharmacologie de l'Université de Copenhague, où il montra un grand intérêt sur les aspects cliniques de la pharmacologie. En 1892 il est médecin chef de médecine interne au *Kongelige Frederiks Hospital* et au *Rigs hospital*.

A partir de 1900 il quitte la chaire de pharmacologie pour se consacrer à la pratique de la médecine jusqu'à la fin de sa vie en tant que professeur de pathologie et de thérapie. Président de la Commission de la Pharmacopée entre 1901 et 1921 et directeur du département de médecine interne de l' *Hospital Frederick* de Copenhague, jusqu'à sa retraite en 1923.

Cet homme modeste et brillant, vécut discrètement jusqu'à sa mort le 14 novembre 1938.

Il était membre de la *Royal Health Commission* depuis 1893; membre honoraire de plusieurs universités. *Docteur honoris causa* en 1912 de l'Université d'Oslo; il reçut du roi la croix de 1^{ère} classe de la *Dannebrog Commander's Cross* en 1912 et la Médaille d'or du Mérite en 1924.

Gram a publié plusieurs ouvrages durant son parcours. https://www.medarus.org/Medecins/MedecinsTextes/gram_hans.htm

3- L'idée de la coloration de Gram :

Gram suivit la méthode de Paul Ehrlich, en utilisant une solution d'aniline et de violet de gentiane. Après un traitement au lugol (mélange d'iode dans de l'iodeure de potassium dans de l'eau distillée et éthanol il observa que certaines bactéries retiennent le colorant (pneumocoques) tandis que d'autres ne le font pas. Ceci a permis de diviser les bactéries en Gram-positives et en Gram-négatives, classification qui est d'une grande utilité aujourd'hui pour décider d'un traitement antibiotique. En 1884, la méthode de Gram est publiée dans le journal

4- Principe de la coloration de Gram

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour distinguer et classer les bactéries.

Les bactéries non décolorées par l'alcool sont dites à Gram positif ; elles apparaissent en violet tandis que les bactéries à Gram négatif, décolorées par l'alcool et recolorées par le colorant de contraste, apparaissent en rose. Ces deux comportements résultent d'une différence fondamentale de composition et de structure de la paroi. Contrairement à la paroi des bactéries à Gram négatif, celle des bactéries à Gram positif interpose une barrière empêchant la décoloration par l'alcool du cytoplasme qui est le siège de la réaction.

Remarque : les levures apparaissent également en violet après une coloration de Gram. [4]

5- Paroi bactérienne :

La pression osmotique interne de la plupart des bactéries est très élevée ; elle est comprise entre 5 et 20 atmosphères. Pour équilibrer cette pression, la bactérie est pourvue d'un véritable exosquelette rigide et résistant appelé, **Paroi**, un des éléments obligatoires pour la vie bactérienne dont la bonne compréhension de sa structure est l'élément clé pour comprendre le principe de la coloration de Gram.

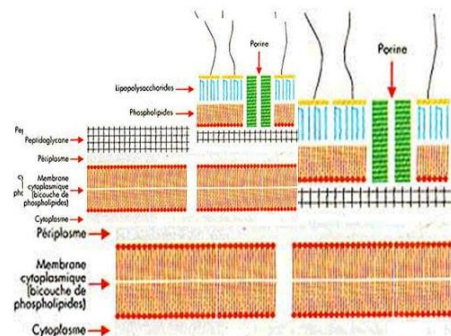


Figure 1- Membranes bactériennes

En fonction de la composition chimique pariétale on distingue deux groupes de bactéries qui sont révélés par la coloration de Gram ; on parle alors de bactérie à Gram positif et de bactéries à Gram négatif.

En fait, il existe une différence considérable entre les deux types de paroi dans leur rôle structural et dans l'adaptation aux changements du milieu ; cependant un constituant pariétal de base demeure commun et partout présent : il s'agit de la muréine, appelée encore peptidoglycane.

Le peptidoglycane est un polymère complexe formé de 3 éléments différents :

1. une épine dorsale ou chaîne glycanique faite d'une alternance de molécules de N-acétylglucosamine (NAG) et d'acide N-acétylmuramique (NAM), elle est identique pour toutes les espèces bactériennes
2. un ensemble de chaînes latérales peptidiques, composées de 4 acides aminés et attachées à l'acide N-acétylmuramique

3. un ensemble de ponts interpeptidiques (liaison pentapeptidique)

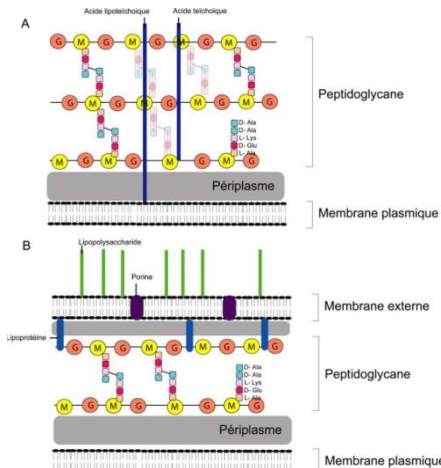


Figure 3-Représentation simplifiée de la paroi des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. A. La paroi des bactéries à Gram positif est constituée de plusieurs couches de PG, d'acides teichoïques et lipoteichoïques. B. La paroi des bactéries à Gram négatif est composée d'une membrane externe reliée par des lipoprotéines à une mince couche de PG. La membrane externe contient des porines, qui permettent le passage de petites molécules hydrophiles à travers la membrane, et des lipopolysaccharides qui sont exposés à la surface des bactéries. Le PG situé dans l'espace périplasmique est constitué de chaînes de sucre (enchaînement d'unités dissaccharidiques N-acétyl-glucosamine (G) et acide N-acétyl-muramique (M)) pontées par des chaînes peptidiques. (D'après Cabeen et al., 2005)

5.1- Paroi des bactéries à Gram positif :

Pauvre en lipides et constituée majoritairement par le peptidoglycane (PG): 90 % de la paroi, son épaisseur est de 20 – 80 nm, certains résidus d'acide muramique de PG sont liés à des acides teichoïques (AT) qui sont des polymères de glycérol et de ribitol reliés à des groupes phosphates (PO₄) et dépassent la paroi, peuvent porter un ou plusieurs constituants comme des polysaccharides ou des acides aminés

Certains lipides du feuillet externe de la MP peuvent être liés aux AT formant des acides lipoteichoïques (LT)

En général il n'y a pas ou peu de protéines dans la paroi des bactéries à Gram positif.

Les acides aminés du peptidoglycane ainsi que les phosphates des acides teichoïques rendent la paroi très lipophile, elle empêche le passage des substances hydrophobes dont certaines sont toxiques.

Les mailles du PG sont perméables aux composés hydrophiles comme les nutriments (sucres, a.a ...) et l'ADN permettant le transfert de l'information génétique entre les bactéries. Les acides teichoïques avec leurs sous unités polyosidiques sont hautement antigéniques utilisés comme marqueurs taxonomiques. Ils peuvent également servir à des récepteurs pour les bactériophages. D'autre molécules associées à la paroi des Gram positifs et qui sont antigéniques c'est le cas du peptide C qui permet par sa variété de classer les

streptocoques en 18 groupes sérologiques selon la classification de Lancefield

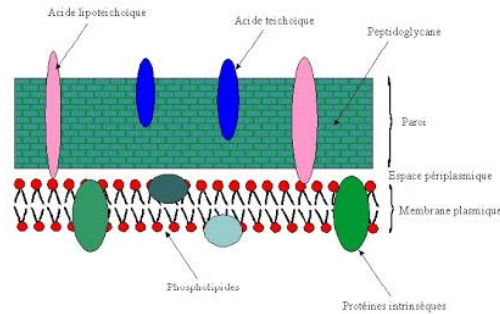


Figure 4- Paroi des bactéries à Gram positif

5.2- Paroi des bactéries à Gram négatif :

Beaucoup plus complexe, la couche du PG est mince 10-15 nm d'épaisseur donc contrairement aux Gram positifs, la paroi des Gram négatifs est pauvre en peptidoglycane mais riche en lipides. La couche de PG baigne dans le périplasm et est entourée d'une membrane externe.

Lipopolysaccharides (LPS) : Le feuillet externe possède à la place de phospholipides des LPS dont la structure varie selon les espèces bactériennes et même selon la souche considérée et est constitué de trois parties :

- ✓ **Lipide A :** partie hydrophobe du LPS est ancré dans le feuillet externe, constitué de chaînes d'acides gras (AG) liées à des résidus de glucosamine phosphorylés correspond à l'endotoxine des Gram négatifs, stimulant très puissant du système immunitaire.
- ✓ **Polysaccharide central :** appelé noyau ou core, c'est un oligosaccharide constitué d'une dizaine de sucres.
- ✓ **Antigène spécifique O :** longue chaîne glucidique dont le motif élémentaire peut se répéter jusqu'à 40 fois. C'est une structure peu conservée entre les différentes espèces de bactéries à Gram négatif du fait de sa forte spécificité antigénique, appelé antigène somatique ou antigène O et permet de sérotyper différentes espèces bactériennes : *E.coli* enteropathogène, *Shigella*, *Salmonella*.

Porines : Protéines formant des canaux étroits d'environ 1 nm de diamètre. Désignées souvent par les lettres *OMP* (*Outer Membrane Protein*), permettent la diffusion passive et non spécifique de composés hydrophiles de masse molaire inférieure à 600 g/mol, A.A., glucides, ions ... Cependant elles sont imperméables aux molécules hydrophobes et aux grosses molécules ce qui explique la résistance des bacilles à Gram négatif (BGN) vis-à-vis de certains ATB.

Lipoprotéine A : Ou lipoprotéine de Braun ; c'est la protéine la plus abondante de la membrane externe ; liée au peptidoglycane sous-jacent et à la membrane externe par son côté hydrophobe inséré dans la couche lipidique, assurant une cohésion

parfaite entre le PG et la membrane externe (ME)
[5, 6]

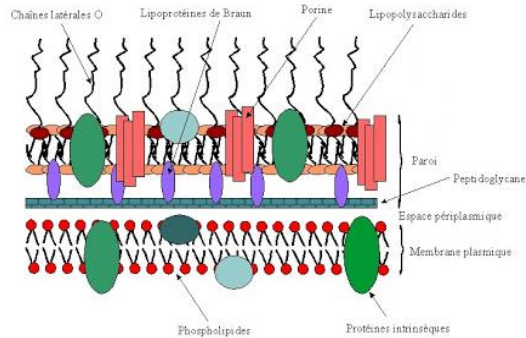


Figure 5- Paroi des bactéries à Gram négatif

6- Coloration de Gram proprement dite :

Elle est fondée sur l'action successive d'un colorant, le cristal violet ou violet de gentiane, une solution iodo-iodurée, puis un mélange d'alcool et d'acétone ou alcool seul.

Elle repose sur une différence fondamentale entre la composition chimique des parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Elle se déroule en 3 étapes après la fixation du frottis :

- 1- Une étape de coloration au violet de gentiane pendant **1 minute**
 - Fixation par la solution iodée pendant **1 minute**
- 2- Une étape de décoloration par l'alcool ou le mélange alcool-acétone pendant **40-50 secondes**
- 3- Une étape de contre coloration par la fushine ou la safranine pendant **30 secondes**

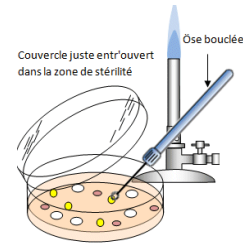


Figure 6- Réactifs pour coloration de Gram

Protocole :

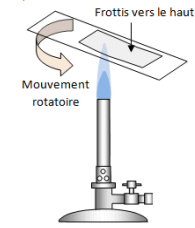
La coloration de Gram est réalisée sur frottis fixé à la Elle nécessite d'avoir un frottis fixé, soit

1. par l'alcool durant 5 minutes (et rinçage à l'eau),
2. plus classiquement en effectuant une fixation simple à l'eau et à la flamme selon les indications suivantes : sur une lame, déposer une goutte d'eau stérile. Ajouter à l'anse de platine stérilisée une goutte de la colonie isolée.



Prélèvement de bactéries

Étaler et fixer à la chaleur à environ 40°C pendant 10 à 15 minutes. Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration.



Fixation du frottis à la chaleur

• Réalisation de la coloration :

Voici succinctement les différentes étapes de cette coloration :

1. Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.



Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.



Jeter l'excès de colorant dans un bécher.



- Rincer très brièvement en faisant couler de l'H₂O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).
- 2. Mordançage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 1 minute; Rincer à l'eau déminéralisée. On peut réaliser une deuxième fois l'opération identiquement pour plus de sécurité.

3. Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone): verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (40-50) secondes

Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déshydratation à l'alcool. La paroi est alors imperméable et le colorant violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone ou alcool. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.

Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée;

4. Recoloration à la safranine ou à la fuschine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes.

Observer avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement x1000).

Résultat :

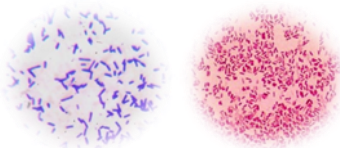


Figure 7-Bactérie à Gram positif



Figure 8-Bactérie à Gram négatif

fixateur en formant des complexes avec le violet de gentiane qui seront mieux retenus par les bactéries, l'alcool solubilise les lipides contenant dans la paroi des bactéries à Gram négatif qui se décolorent par relargage des complexes formés, enfin la fuschine recolore le cytoplasme des bactéries déjà décolorées (les Gram -)

Lorsque la coloration est effectuée à partir d'un produit pathologique contenant des cellules ou des leucocytes, la coloration des noyaux de ces cellules doit apparaître violette et le cytoplasme rose.

Des variantes existent de cette coloration dans lesquelles le violet de gentiane est remplacé par le cristal violet. La décoloration à l'alcool peut être remplacée par une décoloration avec un mélange alcool-acétone. Enfin, la fuschine peut être remplacée par de la safranine.

Des techniques de coloration utilisant des appareils à colorer par spray sont également disponibles. Elles offrent l'avantage de consommer moins de colorant et d'éviter le rejet de colorants sous forme liquide.

Lorsque les prélèvements sont hémorragiques, les nombreuses hématies peuvent gêner l'observation microscopique. Dans ce cas, les frottis sont

immergés pendant 5 minutes dans le liquide de Carnoy (24 ml de chloroforme, 8 ml d'acide acétique, alcool éthylique qsp 100 ml). [1]

8- Preuve de la coloration de Gram

Les étapes 1 et 2 colorent en violet le contenu de la bactérie. Le violet de gentiane se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries. Le lugol permet de fixer cette coloration interne.

L'étape 3 (alcool) sert à décolorer le cytoplasme des bactéries qui seront dites " Gram négatives ". En effet, celles-ci ont une paroi riche en lipides (phospholipides, LPS) qui va laisser passer l'alcool (molécule lipophile) ou le mélange alcool-acétone, et qui décolorera le cytoplasme en éliminant le violet de gentiane. Au contraire, pour les bactéries dites " à Gram positif " la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool car trop épaisse et gluco-protéique. Elles resteront alors violettes.

L'étape 4 est une contre-coloration ayant pour but de redonner aux bactéries Gram négatives précédemment décolorées une teinte rose permettant de les visualiser au microscope. Les bactéries à Gram positif restées violettes seront évidemment insensibles à cette contre-coloration plus pâle que le violet imprégnant leur cytoplasme.

9-Intérêt au diagnostic bactériologique :

Habituellement, la première étape dans l'identification d'une souche bactérienne inconnue est la coloration Gram d'une jeune culture (16-24 h). Cette procédure fournit des informations utiles à propos de la forme et de la taille des cellules, et fait la distinction entre les espèces à Gram négatif et à Gram positif. Cette distinction est essentielle pour décider quels critères doivent être utilisés pour l'identification ultérieure de la souche. La réaction de Gram est l'une des plus essentiels des soi-disant critères de genre ou " critères de première étape " tels qu'ils sont appelés par Cowan (1974) [7]

9.1- Place de la coloration de Gram dans le diagnostic des méningites bactériennes :

La coloration de Gram est rapide, simple, fiable et moins coûteuse.

C'est un élément essentiel du diagnostic, permet la mise en évidence des bactéries dans les liquides biologiques. Elle se fait préférentiellement après cyto-centrifugation.

La morphologie, le groupement et la coloration de Gram permettent d'orienter le diagnostic. *Neisseria*, streptocoque, bacilles peuvent avoir une morphologie typique, mais forme et Gram peuvent être atypiques ou modifiés par un traitement antibiotique. L'examen direct du liquide céphalo-rachidien (LCR) par la coloration de Gram est généralement positif à partir 10^4 à 10^5 UFC/ml. Les patients ayant une quantité initiale de germes $\geq 10^7$ UFC/ml ont un risque de stérilisation retardée du

LCR et de séquelles à court ou moyen terme plus élevés que chez les patients ayant un taux initial < 10^7 UFC/ml. [1]

De nombreuses études ont montré que la sensibilité de cette technique varie entre 60 et 97 % pour une spécificité qui approche les 100 % en l'absence de traitement antibiotique. (Tableau I) [22-23]

Tableau I : Sensibilité, spécificité de la coloration de Gram dans les syndromes méningés

Auteurs	Inclusion	Gram±	Se	Sp	VPP	VPN
Pusponegoro et al. [15]	16	1/15	16.6	100	100	66.6
Surinder et al. [16]	65	10/50	66.6	100	100	90.9
Marcos et al. [17]	57	10/25	40	100	100	68
Dunbar et al. [18]	2635	53/2582	73.5	99.9	94.3	99.3
Van Gastel et al. [19]	37	6/22	27	100	100	74
Richardson et al. [20]	38	25/38	66	100	100	95
Brivet et al. [21]	144	53/90	59	100	100	60

Inclusion : nombre d'échantillon de l'étude ; Gram ± : nombre d'examen de la coloration de Gram positif/négatif ; Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

En cas de traitement précoce, la sensibilité est généralement comprise entre 40 et 60 % [24], voire moins. L'efficacité de cette technique dépend de la charge bactérienne présente dans l'échantillon qui peut être considérablement réduite en cas de prise d'antibiotique. Il est généralement admis qu'un inoculum d'au moins 10^5 bactéries/ml est nécessaire pour être visible par la coloration de Gram. En effet, pour un inoculum inférieur à 10^3 bactéries/ml, la sensibilité de la coloration de Gram est de 25 %, pour un inoculum compris entre 10^3 et 10^4 , elle est de 60 % et de 97 % pour un inoculum supérieur à 10^5 bactéries/ml [25]. Dans cette même étude, les auteurs démontrent que plus de 56 % des LCR positifs en culture ont une charge bactérienne supérieure à 10^5 UFC/ml. La sensibilité de la coloration de Gram est largement augmentée en concentrant le LCR par cytocentrifugation. Par cette technique, les chances d'observer un germe au Gram sont augmentées. Actuellement, la plupart des laboratoires utilisent cette technique. La sensibilité du Gram varie en fonction de l'agent bactérien isolé, elle est généralement élevée et proche de 100 % pour le pneumocoque, inférieure à 50 % pour *L. monocytogenes* [26-27]. Dans l'étude de Lessing et al., 3161 LCR ont été analysés rétrospectivement. Les auteurs montrent que la sensibilité du Gram par rapport aux LCR avec cultures positives est de 100 % pour *S. pneumoniae*, 91,3 % pour *H. influenzae* et 76,2 % pour *N. meningitidis* [28]. Dans l'étude de Tunkel et al., la sensibilité du Gram est de 75 % pour les LCR prélevés avant traitement et elle est inférieure à 50 % pour les LCR prélevés après traitement [29]. Des résultats similaires sont obtenus dans l'étude de Samra et al. Chez des sujets non traités, 13/18 (72,2

%) sont positifs au Gram et seulement 2/4 (50 %) pour les sujets ayant reçu un antibiotique. Concernant le groupe des méningites à pneumocoque, 15/22 (68 %) sont positives à la coloration de Gram [8,30]

9.2- Intérêt pour l'étude cyto bactériologique des urines dans le cadre des infections urinaires :

La pratique d'une coloration de Gram sur une urine non centrifugée et homogénéisée est hautement recommandée car elle présente plusieurs intérêts :

- ✓ Elle permet une orientation diagnostique et éventuellement le choix de milieux de culture et de conditions de culture spécifiques ;
- ✓ La présence de micro-organismes au fort grossissement en immersion ($\times 1000$) est bien corrélée avec la présence d'une bactériurie $\geq 10^5$ UFC/ml, elle présente une sensibilité et spécificité de 90 % pour un microorganisme par champ et une spécificité de 99 % à partir de cinq micro-organismes par champ.
- ✓ De plus, cette coloration de Gram permet d'objectiver facilement des cellules épithéliales, qui lorsqu'elles sont présentes en grande quantité, en particulier chez la femme, signent le plus souvent un prélèvement de mauvaise qualité et s'accompagnent en règle d'une contamination par la flore péri-urétrale. [9]

9.3- Coloration de Gram et étude cyto bactériologique des crachats :

L'interprétation de l'ECBCrachats doit tenir compte à la fois du ou des morphotypes bactériens prédominants à la coloration de Gram et du ou des espèces bactériennes prédominantes à la culture quantitative (culture pure ou plus de 10^7 UFC par millilitre). Lorsque le prélèvement obtenu est de bonne qualité et lorsque l'agent étiologique est isolé d'hémocultures, la sensibilité et la spécificité de la coloration de Gram varient respectivement de 57 à 82 % et de 93 à 97 % pour le pneumocoque. La sensibilité et la spécificité sont respectivement de 79 % et 96 % pour les pneumopathies à *Haemophilus spp.*, 76 % et 96 % pour les pneumopathies à staphylocoque, 78 % et 95 % pour les pneumopathies à bacilles à Gram négatif (autres que *Haemophilus spp.*) [10]

9.4- Place de la coloration de Gram dans le diagnostic des hémocultures :

L'examen des flacons de l'hémoculture par méthode conventionnelle repose sur l'examen, deux fois par jour, de l'aspect macroscopique des flacons à la recherche de signes de croissance bactérienne : turbidité, hémolyse, production de gaz, coagulum.

Au moindre doute, un état frais et une coloration de Gram doivent être effectuée à partir d'un échantillon prélevé à partir du flacon concerné.

Un examen positif à ce stade impose d'avertir le clinicien sur les caractéristiques morphologiques

des microorganismes observés pour commencer ou adapter une antibiothérapie et de réaliser, directement à partir du flacon, un antibiogramme. [11, 12]

9.5- La coloration de Gram dans la coproculture :

Sur selles solides diluées ou directement dur des selles liquides le premier temps indispensable d'une coproculture est l'examen direct : il permet parfois de donner une indication immédiate au clinicien.

On réalise un frottis coloré par coloration de Gram qui permet de mettre en évidence un déséquilibre de la flore en particulier dans les diarrhées consécutives aux antibiotiques et dues au *Staphylococcus aureus* ou *Candida albicans* [13].

Une flore équilibrée est composée majoritairement de bacilles à Gram négatif, mais avec toujours présence de bacilles à Gram positif. Toute perturbation notable de cet équilibre doit être signalée. La forme pathognomonique des *Campylobacter spp* permet de poser le diagnostic dès l'examen direct des selles (Fig.8). [1]

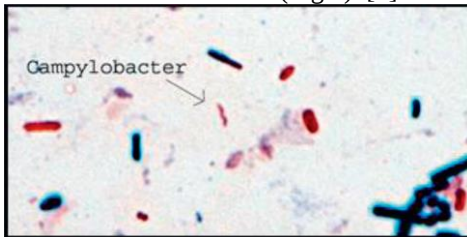


Figure 8 : *Campylobacter spp.* à la coloration de Gram

9.6- Intérêt de la coloration de Gram dans le diagnostic des vaginoses bactériennes :

Les examens à l'état frais et après coloration occupent une place prépondérante dans l'étude des prélèvements génitaux chez la femme (prélèvements vaginaux, cervicaux, endo-utérins, urétral, des glandes de Bartholin)

Pour l'examen des sécrétions vaginales l'idéal est de réaliser une coloration de Gram ; cet examen permet de préciser la cytologie, de confirmer la présence des levures et de juger de l'aspect de la flore bactérienne vaginale.

La flore vaginale sera classifiée selon le score de **Nugent-Krohn-Hillier** (tableau II) qui permet d'indiquer l'aspect normal de la flore vaginale ou de faire le diagnostic des fréquentes vaginoses bactériennes (7 à 8 % de femmes dans les études françaises).

Tableau II : Classification de la flore vaginale à la coloration de Gram (objectif à immersion $\times 1000$) selon le score de Nugent. [34]

Morphotypes quantité par champ ($\times 100$)	>30	6 à 30	1 à 5	<1	0
Morphotype <i>Lactobacillus</i>	0	1	2	3	4
Morphotype <i>Gardnerella</i>	4	3	2	1	0
Morphotype <i>Mobiluncus</i> : (bacilles en « coup d'ongle »)	2	2	1	1	0

Interprétation : (Le total du score est compris entre 0 et 10. Il est obtenu en ajoutant les chiffres obtenus aux lignes 1,2 et 3 du tableau II).

le score de Nugent qui divise la flore vaginale en trois groupes :

- ✓ Groupe 1 (score comprise entre 0 et 3) : flore normale, à prédominance de lactobacilles, parfois elle est associée à d'autres morphotypes bactériens mais présents en petite quantité

- ✓ Groupe 2 (score comprise entre 4 et 6) :

Flore intermédiaire, avec des lactobacilles peu abondantes et associées à d'autres morphotypes bactériens peu différenciés en petite quantité. Il s'agit d'une flore vaginale altérée, mais elle n'est pas en faveur d'une vaginose bactérienne.

- ✓ Groupe 3 (score compris entre 7 et 10) : flore évocatrice d'une vaginose bactérienne. Les lactobacilles ont disparu, au profit d'une flore anaérobie abondante et polymorphe.

Cette exploration microscopique est actuellement plus sensible et spécifique que le diagnostic clinique des vaginoses bactériennes [1].

9- Difficultés de la coloration de Gram ; limites et causes d'erreurs :

10.1-Sensibilité de l'Examen Direct (ED) :

Il s'agit du principal facteur limitant ; la sensibilité de l'examen direct est étroitement liée à la quantité de bactéries présente. La sensibilité de la coloration du Gram dans les prélèvements protégés pulmonaires varie de 56 % à 88 % selon les études avec une spécificité qui varie de 73 à 100 %. Dans l'étude de Uehara, les auteurs ont tenté d'évaluer la valeur de l'examen direct et plus particulièrement de la coloration de Gram dans la décision thérapeutique. Les auteurs montrent que la sensibilité et la spécificité de la coloration de Gram pour distinguer les bacilles à Gram négatif fermentaires des autres bacilles à Gram négatif était estimée respectivement à 71 % et 98,9 %, et les valeurs prédictives et négatives étaient respectivement de 94 % et 93 % [31]

10.2-Facteurs influençant la qualité de l'ED :

Certains prélèvements ne sont pas homogènes. Il peut s'agir de la présence de mucus rencontré fréquemment dans les expectorations ou les prélèvements respiratoires, ou de coagulum qui peut se former dans des prélèvements très protéiniques comme l'ascite, le prélèvement de plèvre ou encore les prélèvements articulaires. Cette inhomogénéité est à l'origine de faux négatifs. Le coagulum ou le mucus peuvent, en quelques minutes, favoriser l'enclassement des cellules et des bactéries présentes, débarrassant la partie « liquide » du prélèvement de la majorité des éléments cellulaires. Ceci souligne l'importance de l'homogénéisation du prélèvement ou l'importance de filtrer les LBA au travers d'une compresse au lit

du patient avant de les introduire dans le tube de transport. [14]

Le temps de transport est un élément qui peut modifier l'examen direct car les bactéries continuent à se multiplier dans un milieu biologique (temps de génération de 20 minutes pour *E. coli*). Au-delà d'un délai de 2 heures entre le prélèvement et l'ED, on risque de ne plus avoir la représentativité de l'échantillon à l'instant t du prélèvement. Ceci est d'autant plus important que le diagnostic de l'infection se fait sur des valeurs seuils pour certains prélèvements : ECBU, prélèvements respiratoires... L'introduction de milieux de transport limitant la croissance bactérienne comme les tubes boratés pour les ECBU a permis de contourner ce facteur limitant. [14].

10.3-Le facteur humain :

N'est pas souvent abordé dans les discussions et dans la littérature. C'est sans doute le facteur le plus difficile à appréhender dans un laboratoire de bactériologie. La bactériologie est une discipline basée sur l'observation. Deux critères bien identifiés sont nécessaires à l'analyse d'un ED : la lecture et l'interprétation clinico-biologique. L'expérience du bactériologiste qui lit la lame, qu'il soit technicien ou biologiste, est précieuse.

Au cours de sa vie professionnelle, le bactériologiste emmagasine des images qui représenteront dans son cerveau une banque de données difficile à évaluer. La « mémoire des yeux » est précieuse. Un technicien expérimenté sera sans doute le mieux placé pour la lecture d'une lame d'ED suivi dans la pratique par le biologiste.

L'expérience du biologiste dans la discussion clinico-biologique relève du même processus. Le biologiste expérimenté pourra mener la discussion avec son collègue clinicien sur la voie du diagnostic et du conseil thérapeutique.

Ce service rendu ne peut s'acquérir qu'avec des années d'expérience. Selon le niveau acquis par le biologiste, le rendu au clinicien ira du simple rendu descriptif de la lame (1er niveau de service rendu) au vrai dialogue aboutissant au conseil thérapeutique (2^{ème} niveau de service rendu).

11. Les pièges de l'examen direct :

N'importe quel bactériologiste, technicien ou biologiste, est confronté à des pièges lors de l'examen direct. Chacun connaît la facilité avec laquelle certaines bactéries Gram positif se décolorent comme *Streptococcus pneumoniae* dont les cocci peuvent s'allonger et le Gram se décolorer

et finalement donner l'aspect d'un bacille à Gram négatif.

Bacillus a également une fâcheuse tendance à se décolorer. De même, méfions-nous des *Haemophilus* dans les examens directs qui peuvent être pléiomorphes et surtout très décolorés au point de ne pas le voir si l'on ne regarde pas le Gram avec une grande attention.

Le méningocoque dans une hémoculture qui peut être pris pour un cocci à Gram positif en amas, avec les conséquences que cela peut avoir en termes de prise en charge du patient.

Qui n'a jamais rendu des cocci à Gram positif en amas pour découvrir à la culture le diplococcobacille à Gram variable qu'est *Acinetobacter*.



Figure 9- *Acinetobacter* spp.

Deux études dans la littérature citent cette erreur comme étant la plus fréquente. L'une des études a suivi 482 épisodes bactériémiques, sur l'ensemble des Gram réalisés sur les hémocultures, 12 n'ont pas correspondu à l'identification finale dont 7 *Acinetobacter*. [31-33]

Seule l'expérience apprend à passer au travers de ces pièges en prenant en compte non pas seulement ce que l'on voit sur la lame mais également le contexte clinique du patient, ce qui nécessite la fameuse collaboration clinico-biologique [14].

10- Conclusion :

En bactériologie dite « standard », la coloration de Gram représente un acte systématique sur tous les prélèvements reçus au laboratoire à chaque fois que cela est possible (hors matériel)

La coloration de Gram reste un examen indispensable dans la démarche d'un diagnostic bactériologique ; sa réalisation simple et rapide contribue à une orientation majeure pour le microbiologiste dans le choix de certaines techniques de diagnostic et de milieux de culture ainsi que pour le clinicien dans le cadre de commencer ou d'adapter une éventuelle antibiothérapie.

Bibliographie

1. F. Denis-2016-Bactériologie médicale. Techniques usuelles 3^{ème} édition p19-21 ; 144-145 ; 151 ; 228-229)

2. [https://www.legeneraliste.fr/ article publié le 25/07/2014]

3. Kaivon Madani -2003- Docteur Hans Christian Joachim Gram: inventor of the Gram stain , Giant in the field of

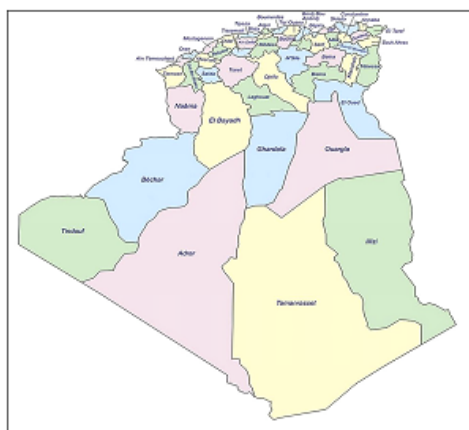
- Microbiology séries, Volume 10, Number 5, pages (235-237)
4. **M.P. HAYETTE-2010**- Travaux pratiques de microbiologie générale Centre Hospitalier Universitaire de Liège - CHU >> Microbiologie médicale
5. **Laurent Gutmann-1987**- Paroi bactérienne et bêta-lactamines médecine sciences; 3: 75-81
6. **Ghuysen-1975**- Paroi bactérienne, membrane cytoplasmique et pénicilline [Université de Liège - ULiège > Institut de Botanique > Service de Microbiologie >>>>]
7. **T. Gregersen-1978**-Rapid Method for Distinction of Gram-Negative from Gram-Positive Bacteria European J. Appl. Microbiol.Biotechnol. 5,123-127
8. **E. Carbonnelle-2009**-Apport des examens biologiques dans le diagnostic positif, la détermination de l'étiologie et le suivi d'une méningite suspectée bactérienne Médecine et maladies infectieuses 39 (2009) 581-605
9. **J.-D. Cavallo -2002**- Outils du diagnostic biologique des infections urinaires nosocomiales (IUN) : analyse critique Médecine et maladies infectieuses 33 (2003) 447-456 (page 450)
10. **L. Drieux-2010**-Caractéristiques des infections respiratoires basses chez les sujets âgés, Antibiotiques Volume 12, Issue 4, P 193
11. **Jean-Louis Koeck-2001**- Revue Française des Laboratoires Volume 2001, Issue 335, Pages 43-47
12. **N. Sora-2011**-Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémocultures dans un centre hospitalo-universitaire marocain. Revue Tunisienne d'Infectiologie.Vol.5, N°2 : 78 – 81
13. **J.L.Avril -1979**- Technique d'une Coproculture , Médecine et Maladies Infectieuses Volume 9, Issue 9, P. 478-483
14. **Marie-Laure Joly-Guillou-2011** Avantages et limites de l'examen direct (ED) en bactériologie, Revue Francophone des Laboratoires, Volume 2011, Issue 434, July-August 2011, Pages 33-38
15. **Pusponegoro HD, et al.-1998**- Epidemiologic study of bacterial meningitis in Jakarta and Tangerang: preliminary report. Pediatr Infect Dis J;17(Suppl. 9):S176-8.
16. **Surinder K, Bineeta K, Megha M. -2007**-Latex particle agglutination test as an adjunct to the diagnosis of bacterial meningitis. Indian J Med Microbiol;25:395-7
17. **Marcos MA, et al.-2001**- New rapid antigen test for diagnosis of pneumococcal meningitis. Lancet;357:1499-500.
18. **Dunbar SA, et al.-1998**-Microscopic examination and broth culture of cerebrospinal fluid in diagnosis of meningitis. J Clin Microbiol;36:1617-20
19. **Van Gastel E, et al. -2007**-Evaluation of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of pneumococcal and meningococcal meningitis in a tertiary care hospital. Eur J Clin Microbiol Infect Dis;26: 651-3.
20. **Richardson DC, et al. -2003**-Evaluation of a rapid PCR assay for diagnosis of meningococcal meningitis. J Clin Microbiol ;41:3851-3.
21. **Brivet FG, et al.-2005**-Accuracy of clinical presentation for differentiating bacterial from viral meningitis in adults: a

- multivariate approach. Intensive Care Med;31:1654–60.
22. **Karandanis D, Shulman JA.-1976-** Recent survey of infectious meningitis in adults: review of laboratory findings in bacterial, tuberculous, and aseptic meningitis. South Med J;69:449–57.
23. **Lauer BA, Reller LB, Mirrett S.-1981-** Comparison of acridine orange and Gram stains for detection of microorganisms in cerebrospinal fluid and other clinical specimens. J Clin Microbiol; 14:201–5.
24. **Jarvis CW, Saxena KM.-1972-** Does prior antibiotic treatment hamper the diagnosis of acute bacterial meningitis? An analysis of a series of 135 childhood cases. Clin Pediatr (Phila);11:201–4.
25. **La Scolea Jr LJ, Dryja D.-1984-** Quantitation of bacteria in cerebrospinal fluid and blood of children with meningitis and its diagnostic significance. J Clin Microbiol ;19:187–90
26. **Seehusen DA, Reeves MM, Fomin DA.-2003-** Cerebrospinal fluid analysis. Am Fam Physician;68:1103–8.
27. **Greenlee JE.** Approach to diagnosis of meningitis. Cerebrospinal fluid evaluation. Infect Dis Clin North Am 1990;4:583–98.
28. **Lessing MP, Bowler IC.** The value of cerebrospinal fluid enrichment culture in the diagnosis of acute bacterial meningitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996;15:79–82
29. **Tunkel AR, Scheld WM.-1995-** Acute bacterial meningitis. Lancet;346:1675–80.
30. **Samra Z, et al.-2003-** Use of the NOW Streptococcus pneumoniae urinary antigen test in cerebrospinal fluid for rapid diagnosis of pneumococcal meningitis. Diagn Microbiol Infect Dis;45:237–40.
31. **Uehara Y, Yagoshi M, TanimichiY, et al.-2009-** Impact of reporting Gram stain results from blood culture bottles on the selection of antimicrobial agents. Am J Clin Pathol ;132:18-25.
32. **Rand KH, Tillan M.-2006-** Errors in interpretation of Gram stains from positive blood cultures. Am J Clin Pathol;126:686-90.
33. **Stone RB, Steele JC Jr.-2009-** Impact of reporting gram stain results from blood cultures on the selection of antimicrobial agents. Am J Clin Pathol;132(1):5-6.
34. **Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL.-1991-** Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. J Clin Microbiol;29:297–301.

Situation de la COVID-19 en Algérie et dans le monde Jusqu'au 31 Décembre 2020

1- COVID-19 : Cumul de cas par wilaya-Algérie- 31 Décembre 2020

Wilayas	Cumul de cas	Wilayas	Cumul de cas	Wilayas	Cumul de cas	Wilayas	Cumul de cas	Wilayas	Cumul de cas
Alger	14697	Bouira	2606	Ain Temouchent	1357	Souk-Ahras	899	Bordj-Bou Arreridj	483
Oran	9553	Tlemcen	2416	Oum El Bouaghi	1353	El Tarf	891	Béchar	388
Blida	7561	Boumerdes	2253	El Oued	1259	Khenchela	805	Naâma	300
Sétif	5044	Biskra	2246	Médéa	1245	Mila	775	El Bayadh	236
Béjaïa	4350	Tipaza	2153	Tiaret	1128	Adrar	750	Tamanrasset	750
Batna	4072	Annaba	1954	Laghouat	998	Mascara	730	Tindouf	205
Tizi-Ouzou	3660	Tébessa	1855	Skikda	972	Tissemsilt	627	Illizi	184
Constantine	3575	Mostaganem	1824	Sidi Belabbes	960	Chlef	631	Saida	84
Jijel	3191	Ouargla	1704	Guelma	927	Relizane	611		
M'Sila	2890	Djelfa	1610	Ain Defla	922	Ghardaïa	493		



Evolution de la situation dans le monde

Cas confirmés : 83 870 418
Guérisons : 60 282 063
Décès : 1 826 378

Evolution de la situation en Algérie

Cas confirmés : 99 610
Guérisons : 67 127
Décès : 2 756

Evolution de la situation dans la wilaya de Batna

Total prélèvement : 8 098
Cumul de cas : 3496
Prévalence : 43.19%
Batna chef lieu de wilaya : 1900
Barika : 442
Ain Touta : 379
Merouana : 233
N'Gaous : 351
Arris : 133
Teniet El Abed : 36
Ras El Aoune : 22



LOUIS Pasteur

27 Décembre 1822- 28 Septembre 1895



Une page d'histoire

4^{ème} Partie et Fin

Professeur A.KASSAH-LAOUAR
LCBM-CLCC-Batna

De 1887-Jusqu'à sa mort

Pasteur est victime d'une seconde attaque d'hémiplégie. Convalescent en mai 1887 il siège à l'Académie de Médecine. En juillet de la même année il est élu Secrétaire perpétuel de l'Académie des Sciences, pour les Sciences physiques.

Pasteur passa le reste de sa vie à identifier différents facteurs pathogènes, et travailla à leur prévention grâce à la vaccination. C'est ainsi qu'il a découvert également :

En 1888, une vaste souscription publique internationale permet de financer la construction de l'Institut Pasteur à Paris qui sera tout à la fois "**un dispensaire pour le traitement de la rage, un centre de recherche pour les maladies infectieuses et un centre d'enseignement pour les études qui relèvent de la microbie.**" c'est le condensé de toutes les idées que Pasteur a glanées au cours de sa vie.

INAUGURATION DE L'INSTITUT PASTEUR

Si l'Institut Pasteur porte le nom de son illustre fondateur et doit beaucoup au génie scientifique de ce dernier, son histoire est faite de la vie et des découvertes de bien d'autres chercheurs. Autant d'hommes et de femmes, habités par l'esprit humaniste de Louis Pasteur, autant d'avancées scientifiques au service de la santé humaine.

L'Institut Pasteur est une fondation privée, à but non lucratif, reconnue d'utilité publique, telle que l'a voulu son fondateur, Louis Pasteur.

Fondé par décret du 4 juin 1887, l'Institut Pasteur est inauguré le 14 novembre 1888 grâce au succès d'une souscription internationale, pour permettre à Louis Pasteur d'étendre la vaccination contre la rage, de développer l'étude des maladies infectieuses et de transmettre les connaissances qui en étaient issues.

L'Institut Pasteur est inauguré le **14 novembre 1888** par le Président Sadi Carnot, il ne tarde pas à

se ramifier en un réseau réparti sur les cinq continents.



Le président Marie-François Sadi Carnot (1837-1894)

Tous les Instituts perpétuent la dimension de l'action pasteurienne. Il fut dirigé par Pasteur lui-même, jusqu'à sa mort. Aujourd'hui, l'Institut Pasteur est réputé pour être l'un des principaux centres mondiaux d'étude des micro-organismes et des maladies infectieuses. La double hantise de résoudre les problèmes et de servir l'humanité justifie la gloire universelle qui est devenue la sienne.



Inauguration de l'institut Pasteur par le président Sadi Carnot le 14 novembre 1888

L'année 1888 marque aussi la fin des travaux de Pasteur tant il est affaibli par de nouvelles hémorragies cérébrales. Il vivra désormais dans l'Institut Pasteur où il aura la joie de voir ses élèves attirer auprès d'eux des chercheurs du monde entier. Un an après l'inauguration de l'Institut Pasteur, en 1889, Emile Roux ouvre le premier cours de microbiologie jamais dispensé dans le monde, intitulé "Cours de microbie technique". Des élèves de tous les pays d'Europe viennent suivre les enseignements théoriques et pratiques de cette nouvelle science. 1889



Le 27 décembre 1892 va marquer son apothéose à l'occasion de la cérémonie de son jubilé: à l'initiative des professeurs Bouchard et Guyon, au grand amphithéâtre de la Sorbonne vibre un immense public réuni pour fêter les 70 ans du grand homme et une destinée prodigieusement accomplie. Pasteur entre au bras du Président de la République devant les applaudissements d'une foule enthousiaste et respectueuse. Lister apporte l'hommage de la médecine et de la chirurgie en faisant l'éloge de celui qui avait levé le voile sur les maladies infectieuses et leur origine microbienne, auquel Pasteur répond: **"A travers cet éclat, ma pensée se rapporte avec mélancolie vers le souvenir de tant d'hommes de sciences qui n'ont connu que des épreuves."**



Jubilé de Louis Pasteur (27 Décembre 1892)



Jubilé de Louis Pasteur (27 Décembre 1892)

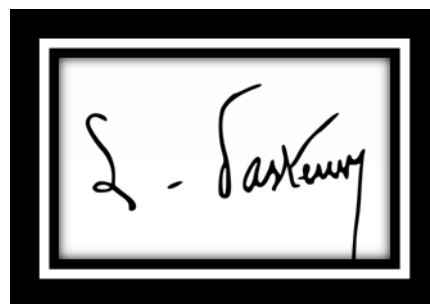
Mort de Louis Pasteur 28 Septembre 1895 à Mort à Villeneuve-l'Étang, près de Garches (France)

Pasteur a obéi toute sa vie à l'idéal le plus pur, à un idéal supérieur de science. L'avenir le rangera dans la radieuse lignée des apôtres du bien et de la vérité. » C'est avec ces mots que Poincaré accompagne la dépouille mortelle de Louis Pasteur, en ce 5 octobre 1895. La France pleure alors un de ses plus grands scientifiques.

il continua, jusqu'en 1894, de fréquenter régulièrement le laboratoire de l'Institut de la rue Dutot dont il était directeur; mais la maladie fut enfin la plus forte et il succomba, le 28 septembre 1895, à un accès d'urémie, dans la propriété domaniale de Villeneuve-l'Étang (domaine sur la commune de Marnes-la-Coquette, en Ile de France), que le gouvernement avait mise à sa disposition pour ses expériences antirabiques et dont il occupait les anciens communs, transformés en maison d'habitation.

Il eut à Notre-Dame, le 5 octobre, des funérailles nationales. Le 26 décembre 1896, son corps, déposé provisoirement dans un caveau de la cathédrale, à la demande de son épouse son corps fut placé dans la crypte de l'Institut où il repose au milieu de ses disciples.

FIN.





Obsèques, funérailles nationales de Louis Pasteur (05 octobre 1895)



Tombeau de Louis Pasteur à l'institut Pasteur



Pasteuriens ayant reçu le prix Nobel de Médecine



Françoise Barré Sinoussi (1947...) 2008



Luc Montagnier (1932...) (2008)



François Jacob (1920 - 2013) en octobre 1965



Jacques Monod (1910-1976) en 1960



André Lwoff (1902-1994) 1965



Daniel Bovet (1907-1992) vers 1957



Charles Nicolle (1866-1936) :1928



Jules Bordet (1870-1961) 1920



Elie Metchnikoff (1845-1916) 1908



Alphonse Laveran (1845-1922) 1907

Qui sera le suivant

Citations et Proverbes



**Très beau texte.
JE LE DEDIE A MES AMIS**

La vie sur terre est un passage

L'amour est un mirage, mais

l'amitié est un « fil d'or » qui

ne se brise qu'à la mort.

Tu sais? L'enfance passe,

la jeunesse suit, la vieillesse

**la remplace puis la mort nous
ramasse. La plus belle fleur du**

monde perd sa beauté, mais

une amitié fidèle dure pour

l'éternité. Vivre sans amis,

c'est mourir sans témoins ?

Microbiologie Médicale

CAS CLINIQUES

Par Professeur A.KASSAH-LAOUAR

Cas clinique N°1.

Mme F.Z, en voie de procréation, son médecin lui prescrit lors de sa première (15 avril) consultation prénatale une sérologie de la rubéole à la recherche d'IgG. Le résultat est revenu : IgG 110 UI/ml (seuil : 10UI/ml).

10 jours plus tard, une 2^{ème} sérologie est effectuée et qui revient, IgG à 130 UI/ml.

Mme F.Z ayant signalé une éruption à son médecin, une recherche des IgM spécifiques est effectuée et qui revient positive (voir tableau).

Date	IgG	IgM	Avidité
15 avril	110 UI/ml	15.3/1.2	43%
25 avril	130 UI/ml	11.6/1.2	48%

1- Interpréter.

2- Des prélèvements effectués chez des femmes enceintes au 1^{ère} trimestre de leurs grossesses, avec notion de contagie (<15 jours), donnent les résultats suivants (voir tableau).

Femmes enceintes	1 ^{er} prélèvement (S1) Seuil : 10UI /ml	2 ^{ème} prélèvement (S2) 30 jours après S1 Seuil : 10UI /ml	
		IgG	IgM
Femme 1	IgG< seuil	< seuil	Négatif
Femme 2	IgG< seuil	< seuil	Positif
Femme 3	IgG< seuil	Positif	Positif

1- Interpréter les sérologies de chacune des 03 femmes ?

a- Donner la conduite à tenir ?

Cas clinique N°2.

Une patiente âgée de 45 ans est adressée en consultation d'hépatologie pour une prise en charge d'un portage chronique du virus de l'hépatite « B ».

Au moment de la consultation, son bilan virologique est le suivant:

AgHBs	Ac anti-HBs	Ac anti-HBc	IgM anti-HBc	AgHBe	Anti-HBe	ADN virale
+	-	+	+/-	+	-	10 ³ copies/ml

1- A quelle(s) situation(s) virologique(s) peut correspondre ce bilan?

R:

2- Expliquez SVP pourquoi?

R:

Que faire pour confirmer vos hypothèses?

R:

3- Lors d'une consultation, deux ans plus tard, les transaminases sont retrouvées à 4 fois la normale, son bilan est le suivant:

AgHBs	Ac anti-HBs	Ac anti-HBc	IgM anti-HBc	AgHBe	Anti-HBe	ADN virale
+	-	+	+/-	-	+	10 ⁶ copies/ml

Commenter le profil virologique ci-dessus?

R:

3 - une ponction biopsie du foie est réalisée et qui montre une hépatite chronique. Un traitement antiviral est envisagé.

- Lequel ?

R: -

Quels sont les objectifs de ce traitement ?

R :

Comment se fait le suivi thérapeutique ?

R :

4- Quel est l'intérêt de la quantification de cet ADN?

R:

5- sur quels arguments va-t-on suspecter une résistance?

R:

Conséquences possibles sur la structure virale.

R:

Quiz pour les nuls**Par Professeur A.Kassah-Laouar****LCBM-CLCC-Batna**

- 1- Une infection qui se pose lorsque des bactéries spécifiques pénètrent par une blessure profonde provoquant la contraction des muscles douloureux.

- ☐ Tétanos
- ☐ Rougeole
- ☐ Lèpre
- ☐ Hémophilie

- 2- Une maladie contagieuse, souvent mortelle, caractérisée par des pustules sur toutes les parties du corps.

- ☐ Cancer
- ☐ Oreillons
- ☐ Variole
- ☐ Poliomyélite

- 3- Maladie de la peau extrêmement infectieuse caractérisée par des éruptions cutanées distinctes.

- ☐ Rougeole
- ☐ Hémophilie
- ☐ Arthrite
- ☐ Poliomyélite

- 4- L'inflammation des articulations causant la douleur et l'enflure due à la détérioration du métabolisme.

- ☐ Arthrite
- ☐ Oreillons
- ☐ Cancer
- ☐ Fièvre Typhoïde

- 5- Une maladie virale aiguë des animaux, transmis aux humains par la morsure d'un animal infecté.

- ☐ Cancer
- ☐ Rage
- ☐ Fièvre Typhoïde
- ☐ Paludisme

- 6- Une condition qui bouche des vaisseaux sanguins en raison de dépôts de cholestérol et de lipides sur la paroi interne des artères.

- ☐ Arthrite
- ☐ Oreillons
- ☐ Variole
- ☐ Athérosclérose

7-Une maladie virale extrêmement contagieuse qui provoque une inflammation de la substance grise de la moelle épinière, qui conduit souvent à la paralysie.



Poliomyélite



Cancer



Athérosclérose



Tétanos

Microbiologie Médicale

CAS CLINIQUES

Par Professeur A.KASSAH-LAOUAR

Réponses

Cas clinique N°1.

Mme F.Z, en voie de procréation, son médecin lui prescrit lors de sa première (15 avril) consultation prénatale une sérologie de la rubéole à la recherche d'IgG. Le résultat est revenu : IgG 110 UI/ml (seuil : 10UI/ml).

10 jours plus tard, une 2^{ème} sérologie est effectuée et qui revient, IgG à 130 UI/ml.

Mme F.Z ayant signalé une éruption à son médecin, une recherche des IgM spécifiques est effectuée et qui revient positive (voir tableau).

Date	IgG	IgM	Avidité
15 avril	110 UI/ml	15.3/1.2	43%
25 avril	130 UI/ml	11.6/1.2	48%

1- Interpréter.

R : On considère que le titre des IgG est stable puisque l'augmentation des IgG n'est pas significative. Il n'y a même pas un dédoublement du titre.

La présence et la cinétique des IgM sont en faveur d'une primo-infection rubéolique. En fait, l'intervalle de temps entre les deux prélèvements (15 jours) est vraisemblablement trop court pour observer une augmentation significative des IgG. Il est donc recommandé de respecter un intervalle de 15 jours à 03 semaines entre deux prélèvements consécutifs pour espérer une augmentation significative des IgG en cas d'infection récente.

- 2- Des prélèvements effectués chez des femmes enceintes au 1^{ère} trimestre de leurs grossesses, avec notion de contagion (<15 jours), donnent les résultats suivants (voir tableau).

Femmes enceintes	1 ^{er} prélèvement (S1) Seuil : 10UI /ml	2 ^{ème} prélèvement (S2) 30 jours après S1 Seuil : 10UI /ml	
		IgG	IgM
Femme 1	IgG< seuil	< seuil	Négatif
Femme 2	IgG< seuil	< seuil	Positif
Femme 3	IgG< seuil	Positif	Positif

- 3- Interpréter les sérologies de chacune des 03 femmes ?

R : Cas cliniques pour les 03 femmes enceintes avec notion de contagion.

1^{er} sérum : les 03 femmes ont des taux inférieurs au seuil de détection des IgG.
ELLES SONT TOUTES CONSIDEREES COMME NON IMMUNISEES

- b- Donner la conduite à tenir ?

1. Femme 1 : absence de contamination, elle doit être vaccinée après l'accouchement
2. Femme 2 : séroconversion probable, un 3^{ème} sérum doit être réalisé 15 jours à 03 semaines plus tard à la recherche d'IgG.
3. Femme 3 : séroconversion IgM et IgG, en faveur d'une primo-infection. Un test d'avidité IgG s'impose de lui-même.

Cas clinique N°2.

Une patiente âgée de 45 ans est adressée en consultation d'hépatologie pour une prise en charge d'un portage chronique du virus de l'hépatite « B ».

Au moment de la consultation, son bilan virologique est le suivant:

AgHBs	Ac anti-HBs	Ac anti-HBc	IgM anti-HBc	AgHBe	Anti-HBe	ADN virale
+	-	+	+/-	+	-	10 ³ copies/ml

4- A quelle(s) situation(s) virologique(s) peut correspondre ce bilan?

R: Hépatite Virale « B » chronique à virus sauvage.

Expliquez SVP pourquoi?

R: pas de mutation de la région pré-C, mais on note une réplication active (Ag Hbe (+)

Que faire pour confirmer vos hypothèses?

R: Quantification de la virémie pour une décision thérapeutique.

5- Lors d'une consultation, deux ans plus tard, les transaminases sont retrouvées à 4 fois la normale, son bilan est le suivant:

AgHBs	Ac anti-HBs	Ac anti-HBc	IgM anti-HBc	AgHBe	Anti-HBe	ADN virale
+	-	+	+/-	-	+	10 ⁶ copies/ml

Commenter le profil virologique ci-dessus?

R: Hépatite chronique B à virus « mutant de la région pré-C » avec réplication virale active

3 - une ponction biopsie du foie est réalisée et qui montre une hépatite chronique. Un traitement antiviral est envisagé.

- Lequel ?

R: - interféron alpha recombinant + Vidarabine (Vira-aMP).

- Quels sont les objectifs de ce traitement ?

R : Les objectifs: inhibition de la réplication virale afin d'éviter l'aggravation des lésions hépatiques (cirrhose et hépatocarcinome)

- Comment se fait le suivi thérapeutique ?

R : Suivi thérapeutique: quantification de l'ADN par PCR

4- Quel est l'intérêt de la quantification de cet ADN?

R: Orienter le traitement anti-viral et Suivi de l'évolution de la charge virale

5- sur quels arguments va-t-on suspecter une résistance?

R: Persistance de l'ADN viral >10⁶ copies/ml

Conséquences possibles sur la structure virale.

R: avec absence de l'Ag Hbe , car la mutation pré-C empêche la sécrétion de l'Ag Hbe.

Solution

Quiz pour les nuls

Par Professeur A.KASSAH-LAOUAR
LCBM-CLCC-Batna

- 1- Une infection qui se pose lorsque des bactéries spécifiques pénètrent par une blessure profonde provoquant la contraction des muscles douloureux.

☒	Tétanos
☐	Rougeole
☐	Lèpre
☐	Hémophilie

Le tétanos est également connue sous le nom de Lockjaw.

Il est causé par la bactérie Clostridium tetani.

La période d'incubation du tétanos peut varier de 4 jours à 3 semaines.

- 2- Une maladie contagieuse, souvent mortelle, caractérisée par des pustules sur toutes les parties du corps.

☐	Cancer
☐	Oreillons
☒	Variole
☐	Poliomyélite

La période d'incubation de la variole est de 10 à 14 jours.

Les programmes nombreux de vaccination dans le monde entier ont complètement éradiqué la variole.

- 3- Maladie de la peau extrêmement infectieuse caractérisée par des éruptions cutanées distinctes.

☒	Rougeole
☐	Hémophilie
☐	Arthrite
☐	Poliomyélite

La rougeole est causée par le morbillivirus.

La période d'incubation de la rougeole est de 10 à 12 jours.

- 4- L'inflammation des articulations causant la douleur et l'enflure due à la détérioration du métabolisme.

☒	Arthrite
☐	Oreillons
☐	Cancer
☐	Fièvre Typhoïde

L'arthrite est une inflammation chronique des articulations.

Il est causé en raison de sur-étirement, aussi bien que le coup involontaire des articulations physique.

5- Une maladie virale aiguë des animaux, transmis aux humains par la morsure d'un animal infecté.

- ☐ Cancer
- ☒ Rage
- ☐ Fièvre Typhoïde
- ☐ Paludisme

La rage est également connue comme l'Hydrophobie, c'est-à-dire, la peur de l'eau.

La rage est causée par le virus Rhabdovirus qui attaque le système nerveux central.

La période d'incubation de la rage est d'environ 1 mois.

6- Une condition qui bouche des vaisseaux sanguins en raison de dépôts de cholestérol et de lipides sur la paroi interne des artères.

- ☐ Arthrite
- ☐ Oreillons
- ☐ Variole
- ☒ Athérosclérose

Les symptômes de l'athérosclérose se produisent lorsque les artères se rétrécissent gravement ou deviennent totalement bloquées.

Si l'artère dans le cœur est bloquée, la personne peut souffrir d'une crise cardiaque.

Si l'artère dans le cerveau est bloquée, la personne peut souffrir de la paralysie.

7- Une maladie virale extrêmement contagieuse qui provoque une inflammation de la substance grise de la moelle épinière, qui conduit souvent à la paralysie.

- ☒ Poliomyélite
- ☐ Cancer
- ☐ Athérosclérose
- ☐ Tétanos

La poliomyélite est une maladie qui touche principalement des enfants.

La période d'incubation de la poliomyélite est de 9 à 14 jours.

La poliomyélite peut être évitée seulement par la vaccination.

Le vaccin de Salk, développé à partir de virus morts, a d'abord été utilisé contre la poliomyélite.

Le vaccin de Sabin, développé à partir du virus vivant affaibli, peut empêcher la contraction de la poliomyélite.

Il a aidé à éliminer la maladie dans les nombreux pays à travers le monde.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

Cadre général

La revue *Scientifique du LCBM* est trimestrielle. Elle couvre l'écologie des services du centre, la biologie dans toutes ses formes, microbiologie et hygiène, hémodiologie et transfusion sanguine, biochimie médicale, parasitologie-mycologie médicale, pharmacologie, histo-embryologie, biologie moléculaire, des reports de cas, des cas cliniques, des études faites dans le service, des conduites à tenir dans les disciplines biologiques, des nouveautés dans le domaine de la biologie, des annonces pour des journées d'étude ou scientifiques, des mises à jour, des citations et proverbes scientifiques, des revues de la littérature. La revue recevra des articles rédigés en langue française. Un manuscrit ne peut pas dépasser deux pages. Des exceptions sont faites en négociation à l'avance avec le Rédacteur en Chef et Rédacteur en Chef adjoint qui en informeront les Rédacteurs associés. Le manuscrit peut également concerner un petit texte sur une page ou plus qui donne une information scientifique pertinente. Cette information peut concerner notamment un complément ou une rectification sur une publication déjà faite dans ce même bulletin. Avant la production de la revue, les articles acceptés seront chaque fois publiés en ligne. En parallèle avec le numéro ordinaire de la revue, il est également prévu, selon les besoins et les demandes, de sortir annuellement un numéro spécial comprenant des articles autour des thèmes précis, des actes de colloque, etc. Les articles de la revue spéciale subissent le même traitement que ceux de la revue ordinaire.

Préparation du manuscrit

Le manuscrit qui est un article scientifique de recherche ou de forum, doit avoir:

Format

- la police de caractères: Times New Roman
- la taille de police pour le titre de la revue: 14
- la taille du contenu: 10
- Interligne: simple, avec 2 cm de marge pour les deux côtés
- Format en 2 colonnes - Enregistrement du document word 97-2003

Titre

Le **titre** du manuscrit doit donner une information concise. Si le titre contient un nom d'espèce, celui-ci doit être mis en italique et suivi par le nom de son auteur et l'année de sa publication. Le nom de famille et de l'ordre doivent également suivre et mis entre parenthèses. (Ex: profil de sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli* isolés de bactériémies dans le service d'onco-hématologie)

Le(s) **nom(s)** de l'(des) **auteur(s)**, est suivi par une adresse postale et une adresse E-mail si elles existent.

Les **mots-clés** ne peuvent pas dépasser 04 mots. Les mots qui se retrouvent dans le titre du manuscrit ne peuvent pas revenir dans les mots-clés.

Le **résumé** est produit en français et en anglais ne peut pas dépasser 15 lignes.

Contenu

Le Contenu pour les articles de recherche scientifique Les sections importantes du contenu du manuscrit sont: Introduction, Méthodologie, Résultats, Discussion et Conclusion (Ces deux sections peuvent être combinées), Remerciement (facultatif), Bibliographie. La discussion devra comprendre assez de matière. Les figures et les tableaux accompagnent les textes. Tout nom scientifique de l'espèce doit être suivi, au moins une fois, par un nom de son (ses) auteur(s) et de l'année de sa publication, de préférence dès sa première citation dans le texte. Des symboles internationalement reconnus peuvent être utilisés.

Bibliographie

La bibliographie se note de la façon suivante dans le texte et doit obéir aux accords (à la convention) de Vancouver:

- Bibliographie dans le texte: La mention des références dans le texte se fait par des numéros entre parenthèses ou entre crochets.
- Liste des références bibliographiques citées à la fin de l'article: les références sont classées par ordre d'apparition dans le texte. On doit évidemment citer tous les auteurs et le titre du document.

Les noms des périodiques (revues, journal bulletins, etc.) doivent s'écrire en entier et non en abrégé.

Les noms des périodiques et les titres des livres doivent être mis en italique. Ex : 13. **Arlet, G., M. Rouveau, I. Casin, P. J. M. Bouvet, P. H. Lagrange, and A. Philippon.** 1994. Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumonia* strains that produce SHV-4 β -lactamase and which were isolated in 14 French hospitals. *J. Clin. Microbiol.* 32:2553–2558.

Envoyer votre article à l'adresse email suivante :

prkassah@yahoo.fr
revue_aures2019@yahoo.fr