

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie en Secteur Biomédical et Vétérinaire



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Etude épidémiologique du portage des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline et d'entérobactéries productrices de carbapénèmases chez la mère et le nouveau-né

Présenté par : *AIT BESSAI Sylia et BOUTEBTOUB Yasmina*

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Mr. BENSAID K.	MAA	Président
Pr. TOUATI A.	Professeur	Encadreur
Mme. BELHADI-ZENATI K.	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2015/2016

Remerciements

Nous tenons à remercier le Pr. A. TOUATI, Mme. A. BOUALEM et Melle. A. MAIRI qui fut pour nous des encadreurs attentifs et disponibles.

Nous remercions également les membres du jury pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions Mr. BENSAID pour sa contribution dans l'analyse statistique des résultats.

Nous remercions tous les membres de la Maternité de Targua-ouzemour de Bejaia.

For you
My Mother

Sylia

Je dédie ce travail à :

A mes très chers parents, frères (Faiz et Rayane) et sœurs (Soraya et Imene) ainsi qu'à toute ma famille et amis (es)

Yasmina

Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Matériel et méthodes	
1. Prélèvements	5
2. Isolement et identification	6
3. Etude de la sensibilité des souches d'entérobactéries aux antibiotiques	7
4. Recherche de la production d'une carbapénèmase	8
4.1. Test de Hodge	8
4.2. Carba NP test modifié	8
4.3. Recherche de la production de métallob- β -lactamases (M β L)	9
5. Etude statistique	9
Résultats	
1. Caractéristiques de la population étudiée	10
2. Souches bactériennes	11
3. Facteurs influençant le portage des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la méthicilline et d'entérobactéries productrices de carbapénèmases chez les mères	14
4. Facteurs influençant le portage de souches de <i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la méthicilline et d'entérobactéries productrices de carbapénèmases chez les nouveau-nés	15
Discussion et Conclusion	17
Références bibliographiques	20

Liste des tableaux

Tableau I :	Antibiotiques testés	7
Tableau II :	Résultats de la sensibilité des souches isolées aux β -lactamines et des tests phénotypiques	13
Tableau III :	Influence de quelques caractéristiques épidémiologiques sur le portage des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases et de <i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la méthicilline chez les mères	15
Tableau IV :	Influence de quelques caractéristiques épidémiologiques sur le portage des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases et de <i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la méthicilline chez les nouveau-nés	16

Liste des abréviations

AMC :	Amoxicilline-Clavulanate
ATCC :	American Type Culture Collection
ATM :	Aztréonam
BLSE :	β -Lactamases à Spectre Etendu
BMR :	Bactérie multirésistante
C3G :	Céphalosporines de 3 ^{ème} génération
C4G :	Céphalosporines de 4 ^{ème} génération
CAZ :	Ceftazidime
CTAB :	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
CTX :	Céfotaxime
EDTA :	Ethylène Diamine Tétra-Acétique
EPC :	Entérobactéries Productrices de Carbapénèmases
EUCAST :	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FEP :	Céfépime
FOX :	Céfoxitine
I :	Intermédiaire
IMP :	Imipénème
KPC :	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
LVP :	Leucocidine de Panton-Valentine
MβL :	Métallo- β -Lactamases
MER :	Méropénème
NDM :	New Delhi Metallo- β -lactamases
OXA- 48 :	Oxacillinase-48
PIP :	Pipéracilline
PLP :	Protéine Liant la Pénicilline
PLP2a :	Protéine Liant la Pénicilline 2a
R :	Résistant
S :	Sensible
SARM :	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline
SCCmec :	Staphylococcal cassette chromosome
TIC :	Ticarcilline
TSB :	Bouillon Trypticase Soja
TSST-1 :	Toxic Shock Syndrome Toxin-1
VIM :	Verona integron-encoded métallo- β -Lactamases

Introduction

Après la découverte de la pénicilline G par Alexander Fleming en 1928, l'introduction des antibiotiques en médecine humaine a été l'une des réalisations les plus importantes dans le traitement des maladies infectieuses. Le succès des premiers traitements anti-infectieux n'a été que de courte durée, du fait de l'émergence de souches résistantes (Aarestrup, 2015). Ainsi le premier rapport de souches résistantes par production de β -lactamases a été publié en 1940 par Abraham et Chain.

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus importante, englobant divers molécules très utilisables (pénicillines, céphalosporines, monobactames et carbapénèmes) à cause de leur faible toxicité, leur large spectre d'activité antibactérien ainsi que leur pouvoir bactéricide (Cavallo et *al.*, 2004).

L'utilisation massive et inappropriée des β -lactamines a conduit à l'émergence de bactéries résistantes, dont différents mécanismes de résistance ont été rapportés incluant l'hyperexpression du système d'efflux, la modification des PLP, l'imperméabilité membranaire par perte de porines et l'hydrolyse enzymatique par les β -lactamases (Reeve et *al.*, 2015).

Cette résistance peut être intrinsèque ou acquise et l'association de multiples mécanismes de résistance aboutit à l'émergence de bactéries multirésistantes (BMR). Les BMR ont non seulement diffusées dans le milieu hospitalier, mais sont maintenant souvent identifiées en milieu communautaire (Aarestrup, 2015). Parmi les BMR, les entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) et les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) sont les plus fréquemment isolées chez les adultes ainsi que chez les nouveau-nés (James et *al.*, 2008).

Introduction

Les nouveau-nés considérés comme des immuno-incompétents, naissent axéniques, c'est-à-dire dépourvus de tout germe, sauf rares exceptions qui relèvent de la pathologie. Cet état d'axénie dure peu de temps après la naissance (Blond, 2000). S'installent alors un certain nombre de microorganismes provenant des flores de la mère (flore vaginale, fécal, nasal et de la peau) et/ou de l'environnement (bactéries véhiculées par le personnel soignant, l'entourage...) qui envahissent ainsi les cavités digestives, les muqueuses et la peau. Les circonstances et le mode d'accouchement pourrait sans doute influencer le développement de la flore intestinale du nouveau-né (Chereau et al., 2015).

S. aureus est un germe commensal qui fait partie de la flore normale de la peau et des muqueuses. C'est également, un pathogène opportuniste extrêmement versatile, doté d'une capacité d'échapper au système immunitaire, capable de produire un grand nombre de facteurs de virulence : Leucocidine de Panton et Valentine (PVL), toxine du choc toxique (TSST-1), hymolysines, exfoliatines, entérotoxines et autres et de survivre dans des conditions hostiles (Benito et al., 2015). Les infections à *S. aureus* chez les nouveau-nés sont de diverses gravités, y compris celles de la peau, septicémie, pneumonie, endocardite, ostéomyélite, lymphadenite et autres (Watkins et al., 2012).

La méthicilline et ses dérivées dont l'oxacilline ont été très efficaces dans le traitement des infections à *S. aureus* y compris les souches productrices de pénicillinases. Cependant, l'utilisation abusive de ces molécules a été à l'origine de l'émergence des souches résistantes d'abord dans les milieux hospitaliers puis dans la communauté (Cocchi et al., 2013). Depuis 1990, des infections à SARM ont été rapportées chez des enfants et les jeunes adultes en bonne santé ne présentant pas de facteurs de risque classiques d'acquisition de SARM (James et al., 2008).

Introduction

Le déterminant génétique de la résistance à la méthicilline est le gène *mecA* qui se trouve dans la cassette chromosomique staphylococcique *SCCmec*. Le gène *mecA* code pour une PLP2a qui possède une faible affinité pour les β -lactamines. La séquence du gène *mecA* est très conservée, alors que l'organisation structurale de la cassette *SCCmec* montre des variations selon les isolats de SARM (Gomez et *al.*, 2014). Les souches de SARM-H sont plus souvent multirésistantes, portant généralement des cassettes *SCCmec* de type I, II et III qui lui confèrent des gènes de résistance à d'autres familles d'antibiotiques autre que les β -lactamines, tandis que, les isolats de SARM-C portent des cassettes *SCCmec* de type IV et V, et tendent à être plus virulents et moins résistants aux antibiotiques (Cocchi et *al.*, 2013).

Parallèlement à cette situation, les entérobactéries font aussi partie de la flore digestive normale. Elles sont connues pour leur pouvoir d'acquérir des gènes codant pour de multiples mécanismes de résistance aux antibiotiques, y compris pour les carbapénèmes (Lutgring et Limbago, 2016). Ces derniers constituent la classe de β -lactamines ayant le spectre le plus large et sont utilisés dans le traitement des infections dues aux entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et de céphalosporinases (Jeon et *al.*, 2015). Cependant, l'émergence et la dissémination des gènes codant pour les carbapénèmases posent un problème majeur de santé publique, car les bactéries résistantes aux carbapénèmes sont résistantes à toutes les β -lactamines et portent des mécanismes conférant une résistance aux autres classes d'antibiotiques, limitant ainsi les options thérapeutiques (Lutgring et Limbago, 2016).

Introduction

Les carbapénèmases décrites chez les entérobactéries appartiennent aux trois classes connues de β -lactamases (classe A, B et D de la classification d'Ambler), dont les plus importantes en microbiologie clinique sont les β -lactamases de type KPC (classe A), les métallo- β -lactamases (classe B) de type VIM, IMP et plus récemment NDM, et les oxacillinases (classe D) de type OXA-48 (Bush et Jacoby, 2010).

Par ailleurs, les entérobactéries sont souvent responsables d'infections urinaires, pulmonaires, de septicémies mais également d'autres infections intra-abdominales. Les infections du aux EPC sont généralement associées à des taux de mortalité très élevés chez les nouveau-nés (Chereau et *al.*, 2015).

Cependant, ces infections causées par les BMR aggravent le pronostic des malades infectés et augmentent les dépenses liées à leur prise en charge (Huynh et *al.*, 2015).

La dissémination des bactéries multirésistantes dans différentes niches écologique, constitue une menace réelle pour la santé publique. Cependant, le portage de souches SARM et d'EPC par les femmes enceintes, constitue un facteur de risque pour le transfert de ces souches vers leurs nouveau-nés lors de l'accouchement, soit par voie naturelle ou par césarienne.

L'objectif de notre étude est l'évaluation de la prévalence du portage de SARM et d'EPC chez les mères et leurs nouveau-nés et de déterminer les facteurs de risques favorisant ce portage ainsi que d'étudier la transmission mère-nouveau-né de ces souches.

Introduction

1. Prélèvements

Au cours de notre étude qui s'est déroulée sur une période de trois mois, allant du 10 Janvier au 10 Avril 2016, un total de 357 mères et 365 nouveau-nés dont 6 jumeaux et 1 triplet ont été prélevés au niveau de la maternité Targua-ouzemour de la wilaya de Bejaia.

Après un consentement éclairé des mères, une fiche de renseignement a été remplie et comportait des informations sur la mère tel que l'antibiothérapie antérieure, voyage...etc. Des prélèvements nasaux, rectaux et vaginaux (uniquement en cas d'accouchement par voie naturelle) pour la mère ainsi que des prélèvements nasaux, d'aisselles, et rectaux pour le nouveau-né ont été effectués par écouvillonnage.

Pour les femmes ayant accouché par voie naturelle, la mère et son nouveau-né ont été immédiatement prélevés au niveau du service post-accouché, excepté pour les nouveau-nés malades qui ont été prélevés au niveau du service de néonatalogie. Tandis que, les femmes ayant accouché par césarienne et dans un délai n'excédant pas 24 heures, la mère a été prélevée au niveau du service de gynécologie et son nouveau-né a été prélevé juste après sa naissance au niveau de la nurserie ou du service de néonatalogie.

Dans l'ensemble, 2026 prélèvements ont été analysés au niveau du laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Bejaia.

Il est à noter que les souches de SARM ont été recherchées dans tous les types de prélèvements effectués. En revanche, les souches d'EPC ont été recherchées uniquement dans les prélèvements rectaux et vaginaux (mères).

2. Isolement et identification

Chaque écouvillon a été utilisé pour faire un pré-enrichissement dans un bouillon Trypticase Soja (TSB) (Institut Pasteur, Alger). L'incubation a été faite à 37°C durant 1 heure.

Pour rechercher les SARM, un volume de 50 µl de la suspension a été introduit dans 180 µl de bouillon Gioletti-Cantoni (Liofilchem, Italie) contenant de la colistine (10 µg/ml) et de l'oxacilline (4 µg/ml). Quelques gouttes d'huile de paraffine ont été ajoutées pour créer l'anaérobiose. Après incubation à 37°C/24 à 48h, le contenu des tubes présentant un précipité noir a été ensemencé sur gélose Baird Parker (Biochem, France) additionnée de la colistine (10 µg/ml) et d'oxacilline (4 µg/ml) et incubé à 37°C/24 à 48h. Après incubation, les colonies noires, brillantes, entourées d'un halo clair sur gélose Baird Parker ont été probablement considérées comme étant des SARM.

Pour rechercher les EPC, un volume 50 µl de la suspension du pré-enrichissement a été introduit dans 180 µl de bouillon TSB additionné de la vancomycine (32 µg/ml) et d'ertapénème (0.5 µg/ml) puis incubé à 37°C/24h. Ensuite, le contenu des tubes a été ensemencé sur gélose Mac Conckey (Liofilchem, Italie) contenant les mêmes antibiotiques que ci-dessus. Après incubation à 37°C/18 à 24h, deux à trois colonies caractéristiques ont été réisolées sur gélose Hektoen (Canda, Espagne). Les souches d'entérobactéries ont été identifiées en utilisant des galeries API20E (Bio-Mérieux, France).

3. Etude de la sensibilité des souches d'entérobactéries aux antibiotiques

La sensibilité des souches d'entérobactéries aux antibiotiques a été testée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton (Canda, Espagne), selon les recommandations du Comité Européen de l'Antibiogramme EUCAST, 2016 (WWW.eucast.org). Des disques d'antibiotiques (OXOID, Angleterre) ont été déposés sur gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne d'environ 10^8 bactéries/ml et incubée à 37°C/18 à 24h. Les diamètres d'inhibition ont été interprétés en accord avec les recommandations de l'EUCAST, 2016.

Tableau I : Antibiotiques testés

Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Classe	Diamètre critique	
				S	R
Céfoxitine	FOX	30	Céphamycines	≥19	<19
Ceftazidime	CAZ	30	C3G	≥22	<19
Céfotaxime	CTX	30	C3G	≥20	<17
Céfépime	FEP	30	C4G	≥24	<21
Imipénème	IMP	10	Carbapénèmes	≥22	<16
Meropénème*	MER	10	Carbapénèmes	≥25*	<25*
Ticarcilline	TIC	75	Carboxypénicillines	≥23	<23
Pipéracilline	PIP	30	Urédopénicillines	≥20	<17
Amoxicilline-clavulanate	AMC	20+10	Aminopénicillines	≥16	<16
Aztréonam	ATM	30	β-lactamines	≥24	<21

* L'interprétation des diamètres d'inhibition pour le méropénème est effectuée selon les recommandations de l'article de Maurer et al., 2015.

4. Recherche de la production d'une carbapénémase

4.1. Test de Hodge

Après avoirensemencé une gélose Mac Conkey avec une souche de référence sensible aux carbapénèmes (*E. coli* ATCC25922), un disque d'imipénème (IMP, 10 µg) a été appliqué au centre de la boîte. Ensuite la souche à tester, le témoin négatif (*E. coli* ATCC25922) et le témoin positif (*E. coli* NDM-5) ont été ensemencés sur la gélose sous forme de stries déposés à partir du disque d'imipénème jusqu'à la périphérie de la boîte. Après 24h d'incubation à 37°C, la production d'une carbapénémase se traduit par une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème (Lee et *al.*, 2010).

4.2. Cabra NP test modifié

La production d'une carbapénémase a été détectée comme suit : Une öse calibrée (10 µl) de colonies bactériennes a été suspendue dans 200 µl du tampon de lyse (CTAB 0.02%) placé dans un tube Eppendorf, puis vortexé pendant 2 min, ensuite 100 µl de cette suspension bactérienne ont été réparties dans 2 tubes Eppendorf "A" et "B". Un volume de 100 µl de la solution A et de la solution A + imipénème (6mg/ml) ont été ajouté dans les tubes "A" et "B", respectivement. Ces deux tubes ont été vortexés et incubés à 37°C pendant 2 heures au maximum. La lecture visuelle de la couleur a été réalisée pour chaque tube Eppendorf, dont un résultat positif se traduit par l'apparition d'une couleur orange/jaune dans le tube "B", tandis que la couleur dans le tube "A" reste rouge (Bakour et *al.*, 2015).

4.3. Recherche de la production de métallo- β -lactamases(M β L)

- **Méthode des disques combinés**

Après avoirensemencé une gélose Mueller Hinton avec la souche à tester, deux disques d'imipénème (IMP, 10 μ g) et un disque vierge ont été déposés séparément. Un volume de 5 μ l d'une solution d'EDTA (0.5 M, pH 8) a été ajouté à l'un des disques d'imipénème en plus du disque vierge utilisé comme témoin. Après 18h d'incubation à 37°C, les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque IMP-EDTA est supérieur à celui obtenu avec le disque d'IMP seul, d'au moins 6 mm, sont considérées comme des souches productrices de M β L (Yong et *al.*, 2002).

- **Recherche de synergie par le DD-test**

Ce test consiste à déposer un disque d'imipénème (IMP, 10 μ g) à une distance de 15mm d'un disque vierge imbibé de 10 μ l de la solution d'EDTA (0.5 M, pH 8). La présence d'une M β L a été détectée par la visualisation d'une image de synergie entre les deux disques (Jeong et *al.*, 2006).

5. Etude statistique

Deux tests statistiques (le test de Khi-deux (χ^2) et le test exact de Fisher) ont été effectués en utilisant le logiciel XL Stat 2015 pour vérifier la significativité entre les taux de portage obtenus chez les mères et les nouveau-nés. La différence entre les fréquences a été considérée comme étant significative lorsque la *p*-value est inférieur ou égale à 5% (*p*-value \leq 5%).

Matériel et méthodes

1. Caractéristiques de la population étudiée

Au total 357 mères et 365 nouveau-nés ont été inclus dans notre étude. Parmi les 357 mères, 217 (60,8%) ont accouché par voie naturelle tandis que 140 (39,2%) ont accouché par césarienne. Les autres caractéristiques épidémiologiques relevées pour ces 357 mères sont comme suit :

- Soixante-douze femmes (20%) ont été hospitalisées avant le jour du prélèvement,
- Cent-dix-huit femmes (33%) ont été sous une antibiothérapie dans les 6 mois précédents le prélèvement,
- Cent-une femmes (28,3%) présentaient une maladie chronique (diabète, tension, ...etc.),
- Cent femmes (28%) ont subi une opération chirurgicale avant le jour du prélèvement,
- Dix-neuf femmes (5,3%) ont déjà voyagé en dehors du pays.

Parmi les 365 nouveau-nés, 217 (59,5%) ont été nés par voie naturelle contre 148 (40,5%) par césarienne. Parmi eux, un total de 201 (55%) sont du sexe masculin contre 164 (44,9%) du sexe féminin (sex-ratio M/F = 1.22).

2. Souches bactériennes

Durant cette étude, un total de 226 souches de SARM ont été isolées, dont 183 souches chez les mères et 43 souches chez les nouveau-nés.

Un total de 9 souches résistantes aux carbapénèmes ont été isolées, dont 6 souches chez les mères et 3 souches chez les nouveau-nés. Ces souches ont été identifiées à l'aide de galeries API20E comme appartenant à *Klebsiella pneumoniae* (6 souches) et à *Escherichia coli* (3 souches)

Les résultats de la sensibilité de ces souches aux β -lactamines et des tests phénotypiques sont résumés dans le tableau N°II. Toutes les souches testées sont résistantes aux pénicillines (TIC, PIP et AMC) et au méropénème, 44,4% (4/9) à l'imipénème, 22,2% (2/9) à la céftazidime et à l'aztréonème, 11,1% (1/9) à la céfotaxime et à la céfoxitine, alors qu'aucune souche n'est résistante au céfépime. L'Hodge test a été positif pour toutes les souches d'entérobactéries résistantes au méropénème indiquant la production probable d'une carbapénémase. Cette dernière n'est pas inhibée par l'EDTA indiquant l'absence de M β L.

En combinant ces résultats à ceux de la sensibilité aux antibiotiques, nous pourrions conclure que ces souches résisteraient aux carbapénèmes par production de carbapénémases de type OXA- 48.

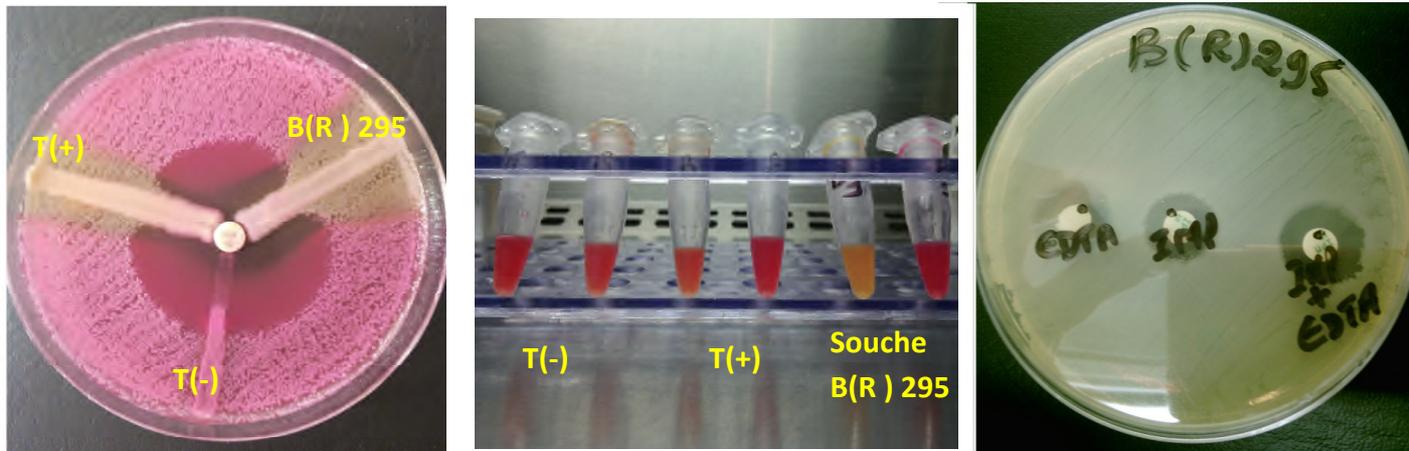


Figure 1 : Test de Hodge et Carba NP test modifié positif + test à l'EDTA négatif pour la souche B(R) 295

Tableau N° II : Résultats de la sensibilité des souches d'EPC isolées aux β -lactamines et des tests phénotypiques

Code	Souches	Origine	Site de prélèvement	TIC	PIP	AMC	CAZ	CTX	FEP	FOX	ATM	IMP	MER	Test de Hodge	Carba-NP test	Test à l'EDTA	Phénotype probable
M(R) 4	<i>E. coli</i>	Mère	Rectal	6 (R)	13(R)	6(R)	32(S)	32(S)	33(S)	26(S)	38(S)	25(S)	21(R)	Positif	Positif	Négatif	OXA-48
M(R) 5	<i>E. coli</i>	Mère	Rectal	6 (R)	12(R)	6(R)	31(S)	31(S)	31(S)	25(S)	35(S)	24(S)	21(R)	Positif	Positif	Négatif	OXA-48
M(R) 39	<i>E. coli</i>	Mère	Rectal	6 (R)	10(R)	6(R)	30(S)	29(S)	32(S)	27(S)	38(S)	24(S)	20(R)	Positif	Positif	Négatif	OXA-48
M(V) 69	<i>K. pneumoniae</i>	Mère	Vaginal	6 (R)	10(R)	6(R)	36(S)	28(S)	33(S)	25(S)	40(S)	26(S)	18(R)	Positif	Positif	Négatif	OXA-48
M(R) 197	<i>K. pneumoniae</i>	Mère	Rectal	6 (R)	11(R)	12(R)	9(R)	6(R)	28(S)	25(S)	6(R)	26(S)	21(R)	Positif	Positif	Négatif	OXA-48et autre*
M(V) 295	<i>K. pneumoniae</i>	Mère	Vaginal	6 (R)	11(R)	6(R)	22(S)	20(S)	26(S)	26(S)	25(S)	15(R)	20(R)	Positif	Positif	Négatif	OXA-48
B(R) 65	<i>K. pneumoniae</i>	Nouveau-né	Rectal	6 (R)	6(R)	6(R)	34(S)	26(S)	28(S)	15(R)	39(S)	16(R)	18(R)	Positif	Positif	Négatif	OXA-48et autre*
B(R) 71	<i>K. pneumoniae</i>	Nouveau-né	Rectal	6 (R)	11(R)	6(R)	38(S)	28(S)	29(S)	23(S)	40(S)	21(I)	22(R)	Positif	Positif	Négatif	OXA-48
B(R) 295	<i>K. pneumoniae</i>	Nouveau-né	Rectal	6 (R)	11(R)	6(R)	20(I)	20(S)	26(S)	27(S)	19(R)	12(R)	17(R)	Positif	Positif	Négatif	OXA-48
Taux de résistance %				100	100	100	22,2	11,1	0	11,1	22,2	44,4	100				

Autres* : Mécanismes de résistance autre que la production de carbapénèmases (imperméabilité et autres)

3. Facteurs influençant le portage des souches de SARM et d'EPC chez les mères

Les taux de portage des souches de SARM et d'EPC observés chez les mères est de 36,4 % (130/357) et 1,7 % (6/357) respectivement.

Il est à rappeler que les souches d'EPC ont été recherchées dans les prélèvements rectaux et vaginaux, tandis que les souches de SARM ont été recherchées dans les prélèvements nasaux, rectaux et vaginaux.

Les taux de portage des souches de SARM diffèrent significativement selon le site anatomique du portage (p -value = 0,0001). Ainsi, le taux de portage le plus élevé est observé pour les prélèvements rectaux (25%, 89/357) suivi par les prélèvements vaginaux (21,56%, 77/357) et enfin par les prélèvements nasaux (4,2% ; 15/357). En plus, un double portage (dans 2 sites anatomiques différents) est observé dans 12% (43/357) des cas contre 1,12% (4/357) pour un triple portage.

Pour les EPC, les taux du portage rectal et vaginal sont de 1,12 % (4/357) et 0,6% (2/357) respectivement. L'étude statistique n'a montré aucune différence significative entre ces deux taux de portage (p -value > 0,05).

Nous avons étudié statistiquement l'influence de certains facteurs (Antibiothérapie antérieure, voyage ...etc) sur les taux de portage des souches de SARM et d'EPC chez les mères. Malgré que des différences ont été observées entre les taux obtenus, aucune différence significative n'a été observée (Tableau N° III).

Tableau N° III : Influence de quelques caractéristiques épidémiologiques sur le portage des souches d'EPC et de SARM chez les mères (N=357)

		SARM +	SARM -	P-value SARM	EPC +	EPC -	P-value EPC
Antibiothérapie antérieure	Oui	46 (12,9%)	72 (20,2%)	0,479	4 (1,1%)	114 (31,9%)	0,096
	Non	84 (23,5%)	155 (43,4%)		2 (0,6%)	237 (66,4%)	
Hospitalisation antérieure	Oui	25 (7%)	47 (13,2%)	0,738	2 (0,6%)	70 (19,6)	0,35
	Non	105 (29,4%)	180 (50,4%)		4 (1,1%)	281 (78,7%)	
Maladie chronique	Oui	37 (10,4%)	64 (17,9%)	0,957	3 (0,8%)	98 (27,5%)	0,36
	Non	93 (26,1)	163 (45,7%)		3 (0,8%)	253 (71,9%)	
Chirurgie	Oui	29 (8,1%)	71 (19,9%)	0,069	3 (0,8%)	97 (27,2%)	0,35
	Non	101 (28,3%)	156 (43,7%)		3 (0,8%)	254 (71,1%)	

4. Facteurs influençant le portage de souches SARM et EPC chez les nouveau-nés

Au cours de notre étude 365 nouveau-nés ont été étudiés pour le portage de souches de SARM et d'EPC. Ainsi nous avons enregistré des taux de portage de 9,5% (35/365) et 0,8% (3/365) respectivement pour SARM et EPC chez ces nouveau-nés.

Il est à rappeler que les souches d'EPC n'ont été recherchées que dans les prélèvements rectaux, tandis que les souches SARM ont été recherchées dans les prélèvements des aisselles, prélèvements rectaux et nasaux.

Comme s'est fut le cas pour les mères, le portage rectal est le plus important (8,49%, 31/365) comparé aux deux autres sites de portage : 3,01% (11/365) pour le portage dans les aisselles vs 0,27% (1/365) pour le portage nasal. L'étude

Résultats

statistique a montré des différences significatives entre ces taux de portage suggérant ainsi que le portage de SARM dépend significativement du site anatomique.

Contrairement à la mère, deux facteurs semblent influencer significativement sur le portage de SARM chez les nouveaux nés. Il s'agit notamment du sexe masculin (p -value <0,05) et de la naissance par voie naturelle (p -value < 0,05).

Pour le portage de souche d'EPC, l'étude statistique n'a révélé aucun facteur de risque (p -value > 0,05).

Tableau N° IV : Influence de quelques caractéristiques épidémiologiques sur le portage des souches d'EPC et de SARM chez les nouveau-nés (N=365)

		SARM +	SARM -	P-value SARM	EPC +	EPC -	P-value EPC
Césarienne		7 (4,72%)	141 (95,3%)	0,009	1 (0,7%)	147 (99,3%)	1
Normal		28 (12,9%)	189 (87,1%)		2 (0,9%)	215 (99,1%)	
Sexe	Masculin	26 (13%)	175 (87%)	0,016	1 (0,5%)	200 (99,5%)	0,59
	Féminin	9 (5,5%)	155 (94,5%)		2 (1,2%)	162 (98,8%)	

Discussion et conclusion

La résistance bactérienne aux antibiotiques est en perpétuelle évolution. Cette résistance est la résultante d'interactions complexes entre la bactérie d'une part et son environnement d'autre part. Les bactéries pour faire face à la pression de sélection exercée par les antibiotiques utilisent des parades leur permettant de s'adapter aux conditions hostiles de leur environnement (Kalai, et *al.*, 2004).

Dans cette étude prospective, nous avons évalué les taux de portage des souches de SARM et d'EPC ainsi que les facteurs favorisant ce portage chez les mères et leurs nouveau-nés. Le taux de portage de SARM chez les mères est de 36,4% qui est relativement similaire à celui rapporté par Schaumburg et *al.*, en 2014 au Gabon (29,6% , 92/311). Cependant, ce taux est relativement élevé par rapport à d'autres taux rapportés dans le monde : en Espagne (9,6%, 2/21) (Benito et *al.*, 2015) et aux USA (3%, 9/304) (Pinter et *al.*, 2009) et (3,6%, 15/422) (Lazenby et *al.*, 2012).

Aucun des facteurs étudiés (âge, maladie chronique, hospitalisation antérieure, antibiothérapie antérieure...) chez les mères ne semble être un facteur influençant le portage de SARM. Plusieurs études ont rapporté que l'hospitalisation antérieure pouvait être un facteur de risque pour le portage de SARM chez les mères (Lazenby et *al.*, 2012).

Une différence significative a été observée entre les taux de portage des souches de SARM au niveau des différents sites du portage (p -value = 0,0001). Le taux de portage le plus élevé est celui du portage rectal (25%, 89/357) suivi par le portage vaginal (21,56%, 77/357), tandis que, celui du portage nasal a été le plus faible (4,2%, 15/357). Contrairement à nos résultats, plusieurs auteurs ont rapporté

Discussion et conclusion

que le taux de portage nasal est le plus important (Rusch et al., 2008; Pinter et al., 2009).

Les taux de portage par site rapportés dans différentes études sont différents de ceux retrouvés dans de notre étude. Lazenby et al., 2012 rapportent un taux de 1,5% pour le portage rectal, des taux de portage vaginal de 0,3% et 0,9% ont été enregistrés respectivement par Rusch et al., 2008 et Pinter et al., 2009. Ces taux sont plus faibles que ceux obtenus dans notre étude.

Un taux de portage de souches de SARM de 9,5% a été obtenu pour les nouveau-nés durant notre étude. Ce résultat est relativement proche de celui rapporté par Lazenby et al., en 2012, alors qu'il est supérieur à ceux enregistrés par Reusch et al., 2008 et Pinter et al., 2009. Cependant, nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par d'autres auteurs, comme Schaumburg et al., 2014 et Benito et al., 2015 qui ont rapporté des taux de 16,4% (52/318) et 23,8% (5/21) , respectivement.

Comme pour les mères, les taux de portage de souches SARM chez les nouveau-nés sont influencés par le site du portage dont le taux le plus élevé est celui du portage rectal qui est de 8,49% (31/365), ce taux est inférieur à celui rapporté par Benito et al., 2015. Le portage au niveau des aisselles est de 3,01% (11/365) et celui du portage nasal est de 0,27% (1/365). Ce dernier est relativement similaire à celui rapporté par Reusch et al., 2008 qui était de 0,3% (1/288), alors qu'il est inférieur à celui rapporté par Schaumburg et al., 2014 et qui était de 1,31%.

La voie de naissance a été retrouvée comme un facteur influençant le portage des souches de SARM chez ces nouveau-nés dont le portage chez les nouveau-nés par voie naturelle est le plus important (12,9%, 28/217). Cependant, Lazenby et al.,

Discussion et conclusion

2012 ont rapporté dans leur étude que le taux de portage le plus élevé a été enregistré chez les nouveau-nés naissant par césarienne. Les auteurs ont mis l'hypothèse que leurs résultats sont liés au contact étroit des nouveau-nés avec le personnel et l'environnement.

Concernant le sexe, les nouveau-nés du sexe masculin (13%) ont le taux de portage le plus élevé comparé à ceux du sexe féminin (5,5%). Le même résultat a été obtenu par Alsubaie et al., 2012.

Concernant le portage des souches d'EPC chez les mères et leurs nouveau-nés, la recherche d'article sur Pub Med en utilisant différents mots clés n'a donné aucun résultat. Aussi, notre étude constitue le premier rapport d'un portage mère-enfant.

En conclusion, notre étude constitue un premier rapport en Algérie sur la prévalence des souches de SARM et d'EPC chez les mères et leurs nouveau-nés. Pour cette raison, nous recommandons une désinfection locale des voies pour éliminer le risque de transmission de la mère à l'enfant lors d'un accouchement par voie naturelle. De plus, un dépistage de ces deux BMR chez la mère avant l'accouchement pourrait aider dans la prévention de cette transmission vers le nouveau-né. Chez les mères porteuses, une décharge de ces deux BMR et surtout le SARM est nécessaire pour réduire les risques de transmission.

Notre étude reste préliminaire et devrait-être compléter par :

- Caractérisation moléculaire des souches pour étudier leur clonalité et leur origine.
- Faire un suivi des nourrissons sur une plus longue période et en incluant un échantillon plus représentatif.

Discussion et conclusion

Références bibliographiques

- **Aarestrup FM.** (2015). The livestock reservoir for antimicrobial resistance: a personal view on changing patterns of risks, effects of interventions and the way forward. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* **370**, 20140085.
- **Alsubaie S, Bahkali K, Somily AM, Alzamil F, Alrabiaah A, Alaska A, Alkhattaf F, Kambal A, Al-Qahtani AA, Al-Ahdal MN.** (2012). Nosocomial transmission of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a well-infant nursery of a teaching hospital. *Pediatr Int.* **54**, 786-92.
- **Bakour S, Garcia V, Loucif L, Brunel JM, Gharout-Sait A, Touati A, Rolain JM.** (2015). Rapid identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a modified Carba NP test. *New Microbes New Infect.* **7**, 89-93.
- **Benito D, Lozano C, Jiménez E, Albújar M, Gómez A, Rodríguez JM, Torres C.** (2015). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from faeces of healthy neonates and potential mother-to-infant microbial transmission through breastfeeding. *FEMS Microbiol Ecol.* **91**, 007.
- **Blond B.** (2000). Best indications for cesarean section. *Soins Pédiatr Pueric.* **7**, 197.
- **Bush K, Jacoby GA.** (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* **54**, 969-76.
- **Cavallo JD, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E.** (2004). Betalactamines. *EMC-Maladies Infectieuses.* **1**, 129-202.
- **Chereau F, Herindrainy P, Garin B, Huynh BT, Randrianirina F, Padget M, Piola P, Guillemot D, Delarocque-Astagneau E.** (2015). Colonization of extended-spectrum- β lactamase- and NDM-1-producing *Enterobacteriaceae* among pregnant women in the community in a low-income country: a potential reservoir for transmission of multiresistant *Enterobacteriaceae* to neonates. *Antimicrob Agents Chemother.* **59**, 3652-5.
- **Cocchi P, Taccetti G, Montagnani C, Campana S, Galli L, Braggion C, de Martino M.** (2013). Evidence of transmission of a Panton-Valentine leukocidin-positive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone: a family affair. *Clin Microbiol Infect.* **19**, 1158-62.
- **European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID).** (2016). EUCAST Definitive Document E.DEF 3.1, June 2016: Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clin Microbiol Infect.* **6**, 509-15.

Références bibliographiques

- **Gómez P, González-Barrio D, Benito D, García JT, Viñuela J, Zarazaga M, Ruiz-Fons F, Torres C.** (2014). Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carrying the *mecC* gene in wild small mammals in Spain. *J Antimicrob Chemother.* **69**, 2061-4.
- **Huynh BT, Padget M, Garin B, Herindrainy P, Kermorvant-Duchemin E, Watier L, Guillemot D, Delarocque-Astagneau E.** (2015). Burden of bacterial resistance among neonatal infections in low income countries: how convincing is the epidemiological evidence? *BMC Infect Dis.* **15**, 127.
- **James L, Gorwitz RJ, Jones RC, Watson JT, Hageman JC, Jernigan DB, Lord Y, Caballes N, Cortes C, Golash RG, Price JS, Gerber SI.** (2008). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among healthy full-term newborns. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* **93**, F40-4.
- **Jeon JH, Lee JH, Lee JJ, Park KS, Karim AM, Lee CR, Jeong BC, Lee SH.** (2015). Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int J Mol Sci.* **16**, 9654-92.
- **Jeong SH, Bae IK, Park KO, An YJ, Sohn SG, Jang SJ, Sung KH, Yang KS, Lee K, Young D, Lee SH.** (2006). Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea. *J Microbiol.* **44**, 423-31.
- **Kalai S, Jouaihia W, Mahjoubi F, Ghozzi R, Thabet L, Ben Rejeb S, Hammami A, Kechrid A, Ben Hassen A.** (2004). *Pseudomonas aeruginosa*: a multicentric study of antibiotic resistance (1999-2000). *Tunis Med.* **82**, 1070-4.
- **Lazenby GB, Soper DE, Beardsley W, Salgado CD.** (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among women admitted for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* **206**, 329.e1-5.
- **Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, Docquier JD, Chong Y.** (2010). Improved performance of the modified Hodge test with Mac Conkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *J Microbiol Methods.* **83**, 149–152.
- **Lutgring JD, Limbago BM.** (2016). The Problem of Carbapenemase-Producing-Carbapenem-Resistant-*Enterobacteriaceae* Detection. *J Clin Microbiol.* **54**, 529-34.
- **Maurer FP, Castelberg C, Quiblier C, Bloemberg GV, Hombach M.** (2015). Evaluation of carbapenemase screening and confirmation tests with *Enterobacteriaceae* and development of a practical diagnostic algorithm. *J Clin Microbiol.* **53**, 95-104.
- **Pinter DM, Mandel J, Hulten KG, Minkoff H, Tosi MF.** (2009). Maternal-infant perinatal transmission of methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*. *Am J Perinatol.* **26**, 145-51.

Références bibliographiques

- **Reeve SM, Lombardo MN, Anderson AC.** (2015). Understanding the structural mechanisms of antibiotic resistance sets the platform for new discovery. *Future Microbiol.* **10**, 1727-33.
- **Reusch M, Ghosh P, Ham C, Klotchko A, Singapuri S, Everett G.** (2008). Prevalence of MRSA colonization in peripartum mothers and their newborn infants. *Scand J Infect Dis.* **40**, 667-71.
- **Schaumburg F, Alabi AS, Mombo-Ngoma G, Kaba H, Zoleko RM, Diop DA, Mackanga JR, Basra A, Gonzalez R, Menendez C, Grobusch MP, Kreamsner PG, Köck R, Peters G, Ramharter M, Becker K.** (2014). Transmission of *Staphylococcus aureus* between mothers and infants in an African setting. *Clin Microbiol Infect.* **20**, O390-6.ZE1
- **Watkins RR, David MZ, Salata RA.** (2012). Current concepts on the virulence mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol.* **61**, 1179-93.
- **Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y.** (2002). Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas spp* and *Acinetobacter spp*. *J Clin Microbiol.* **40**, 3798e801.

Résumé

L'objectif de notre étude est d'évaluer le taux de portage des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) et d'entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) chez les mères et leurs nouveau-nés ainsi que l'étude de la transmission mère-nouveau-né de ces bactéries.

Un total de 357 mères et 365 nouveau-nés ont été prélevés après accouchement au niveau de la maternité Targua-ouzemour de la wilaya de Bejaia. Parmi ces 365 nouveau-nés, 19 qui sont non porteurs des souches de SARM et/ou d'EPC et dont la mère est porteuse ont été suivis. Après isolement et identification, la sensibilité des souches d'EPC aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de l'antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller Hinton. La production d'une carbapénémase a été étudiée par le test de Hodge, Carba-NP test modifié et le test à l'EDTA.

Un total de 245 souches de SARM et 12 souches d'EPC ont été isolées et des taux de portage de 36,4% et de 1,7% de SARM et d'EPC ont été obtenus chez les mères, contre un taux de 9,5% et de 0,8% chez les nouveaux nés et des taux de 52,6% et de 16% pour les nourrissons suivis. Les taux de transmission mère-nouveau-né des souches de SARM et d'EPC a été de 7% et de 0,3%, respectivement. Aucun facteur de risque influençant sur le portage des souches de SARM et d'EPC chez les mères n'a été noté, alors que pour le portage chez les nouveaux nés, deux facteurs ont été enregistrés, le sexe et la voie de naissance.

A notre connaissance, ceci est le premier rapport de portage de souches de SARM et d'EPC chez la mère et leurs nouveau-nés en Algérie

Mots clés : SARM, EPC, transmission, mère /nouveau-né, nourrisson, portage.

Abstract

This study aimed to determine the prevalence of and risk factors for colonization with carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in newborn infants and their mothers, as well as to investigate the mother-newborn transmission of these strains.

This investigation was conducted in the maternity of Bejaia, where colonization of 357 mothers and 365 newborns was assessed at deliver and after one month for just 19 newborns who were not carriers of MRSA and/or CPE at birth and their mothers were carriers. After isolation and identification, the susceptibility of CPE strains to β -lactamins was determined by the antibiogramme method with diffusion on Mueller Hinton agar. The production of carbapenemases was tested with a hogde test, modified Carba-NP test and the EDTA test.

A total of 245 MRSA and 12 PCE strains were isolated and a prevalence of 36.4% and 1.7% for MRSA and PCE was obtained from mothers, against 9.5% and 0.8% from newborns and 52.6% and 16% among infants (1 month). Transmission mother-newborn rates of MRSA and PCE strains were 7% and 0.3% respectively. No risk factor influencing the carrying of MRSA and PCE strains among mothers was noted, whereas for newborns, two factors were recorded (sex and route of birth).

To your knowledge, this is the first report about prevalence of MRSA and PCE strains in mothers and their newborns in Algeria.

Keywords: SARM, PCE, carriage, mother / newborn, transmission, infant.

Introduction

***Matériel
et
méthodes***

Résultats

Discussion
et
conclusion