

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université A /MIRA de Béjaia  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de microbiologie

## Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme

D'ingénieur d'Etat en Génie Biologique

# Thème

**Caractérisation phénotypique de la résistance  
aux antibiotiques des souches  
d'entérobactéries isolées des prélèvements  
pathologiques en médecine de ville**

**Présenté par:**

**M<sup>elle</sup> Nait Amara Lydia**

**Devant le jury :**

**Président :M<sup>r</sup> Amir**

**Promoteur : M<sup>r</sup>. Touati A.**

**Copromotrice :M<sup>elle</sup> Mezhoud Halima**

**Examinatrice:M<sup>me</sup>Belhadi. K**

2011/2012

# Remerciement

« Louange a Allah pour nous avoir donnée le courage pour réaliser ce travail »

*Je tien à remercier tout mes enseignants, du primaire jusqu'à l'ingénieura.*

*Je remercie mon promoteur Dr Touati, maître de conférences de classe A à l'université de Béjaïa, et ma Co-promotrice M<sup>elle</sup> Mezhoud Halima, pour leur aide, leur orientation, leurs informations, leur disponibilité et leur compréhension.*

*Je remercie également les membres de jury qui ont acceptés de juger ce travail*

*Et un autre Merci pour Mme Gharout, M<sup>elle</sup> Tafoukt, Soumaya et à toute autre personne qui a, de près ou de loin, participé à la réalisation de ce travail. Nous leur exprimons notre profonde gratitude.*

*Et un grand mercie à toute l'équipe du laboratoire.*

# *Dédicaces*

*Grace a la volonté du dieu, et beaucoup de patience et de volonté je dédie ce travail :*

*Aux deux êtres les plus chères au monde, mes parents que dieu les gardes*

*Ma sœur warda, son mari farouk, et leurs deux merveilleux enfants rabia et elina*

*Ma très chère grand-mère malha*

*A la mémoire de ma grand-mère paternel yemma nounou*

*A la mémoire de mes deux grands pères*

*A mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines*

*A mes binômes : Siham et Safia que j'adore*

*A tous mes amis*

*A toutes la promotion génie biologique*

*2011/2012*

*LYDIA.*

# *Table des matières*

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	01
<b>Synthèse bibliographique</b>	
I. Mécanismes généraux de la résistance aux antibiotiques.....	02
I.1. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques.....	02
I.1.1. Inactivation des antibiotiques .....	02
I.1.2. Altération de la cible.....	03
I.1.3. Prévention de l'accès des antibiotiques à la cible.....	04
I.2. Mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques.....	05
I.2.1. Plasmides.....	05
I.2.2. Transposons.....	05
I.2.3. Intégrons de classe 1.....	06
I.3. Mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques.....	06
I.3.1. $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE).....	06
I.3.2. Céphalosporinases.....	08
I.3.3. Carbapénèmases et métallob- $\beta$ -lactamases.....	08
<b>Matériel et méthodes</b>	
I. recueils de souches.....	10
II. Identification des souches.....	10
III. Etude de la sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques.....	12
IV. détermination des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamine.....	14
<b>Résultats et discussions</b>	
I. Collecte de souches bactériennes .....	15
I.1. Répartition des souches par prélèvement.....	15
I.2. Répartition des souches d'entérobactéries par espèces.....	15
I.3. Caractéristiques de la population étudiée.....	17
II. Résistance des souches d'entérobactéries aux antibiotiques.....	18
II.1. Résistances aux $\beta$ -lactamines.....	18
II.1.1. Répartitions des souches résistantes aux C3G par espèce.....	18
III. Analyse des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines.....	19

III.1. Recherche des $\beta$ -lactamases a spectre élargi.....	19
III.1.1. DD-test.....	19
III.1.2. DD-test sur Mueller-Hinton additionné de la cloxacilline.....	20
III.1.3. Déduction des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines.....	22
IV. Profils de résistance des souches d'entérobactéries.....	23
Conclusion.....	25
Bibliographie	
Annexe	

## Liste des abréviations

- AAC** : aminosides acetyltransférase ;
- ADN** : acide désoxyribose nucléotide ;
- ANT** : aminosides nucleotidyltransférase ;
- APH** : aminosides phosphotransférases ;
- BLSE**: B-lactamase à spectre élargie ;
- C1G**: Céphalosporine de 1<sup>ière</sup> génération ;
- C2G**: Céphalosporine de 2<sup>ième</sup> génération ;
- C3G** : Céphalosporine de 3<sup>ième</sup> génération ;
- C4G**: Céphalosporine de 4<sup>ième</sup> génération ;
- CAT** : chloramphénicolsacetyltransférase ;
- CFA-SFM**:Comité français de l'antibiogramme ;
- CMI**: Concentration minimale inhibitrice ;
- CTX-M** :Céfotaximase-Munich ;
- EBLSE**:Entérobactérie B-Lactamase à spectre élargie ;
- D-D-test**: Doubler Disc test;
- I $\beta$ L** : inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases ;
- KPC** : *K.pneumoniae*carbapénèmase ;
- LPS** : lipopolysaccharide ;
- MH** : Mueller Hinton ;
- MHC** : Mueller Hinton additionnée à la cloxacilline ;
- M $\beta$ L** : métallo- $\beta$ -lactamases ;
- N** : Négative ;
- P** : Positive ;
- PLP** : Protéines liant les pénicillines ;
- Qnr** : Quinolones résistance ;
- QRDR**: quinolone-resistancedeterminingregion ;
- RND** : résistance nodulation cell division ;
- SARM** : *Staphylococcus aureus* Résistant à la methiciline ;
- SHV** : Sulfhydryl variable ;
- SI** : séquence d'insertions ;
- TEM** : Temoneira.(Résistant aux inhibiteurs).

**Liste des tableaux**

<b>N°</b>	<b>TITRE</b>	<b>Page</b>
I	Différents tests biochimiques d'identification	<b>10</b>
II	Liste des antibiotiques testés.	<b>13</b>
III	Répartition des souches d'entérobactéries par type de prélèvement.	<b>15</b>
IV	Répartition des souches selon le sexe des patients	<b>17</b>
V	Répartition des souches résistantes aux C3G par espèce	<b>19</b>
VI	Diamètres (mm) des zones d'inhibition du DD-test	<b>20</b>
VII	Diamètres des zones d'inhibition sur gélose Mueller-Hinton avec et sans Cloxacilline	<b>21</b>
VIII	Déduction des phénotypes.	<b>22</b>

## Liste des figures

<b>N°</b>	<b>TITRE</b>	<b>page</b>
1.	Mise en évidence de la production d'une BLSE par le DD-test.	<b>14</b>
2.	Répartition des souches d'entérobactéries par espèces.	<b>16</b>
3.	Répartition des souches selon l'âge des patients	<b>18</b>
4.	Image de synergie pour la souche A33 productrice de BLSE.	<b>20</b>
5.	Phénotype d'hyperproduction de céphalosporinase pour la souche M4	<b>21</b>
6.	Profil de résistance des souches d'entérobactéries aux autres antibiotiques.	<b>23</b>



L'avènement de l'antibiothérapie, dans les années 1940, a complètement révolutionné le domaine médical et entraîné une réduction significative de la mortalité associée aux maladies infectieuses (Carle, 2009). Cependant, leur utilisation abusive et non contrôlée a pour conséquence l'émergence de bactéries résistantes et ce par le développement de nombreux mécanismes que ce soit d'origine chromosomique ou plasmidique (Mesaros *et al.*, 2005).

Dernièrement, de nouveaux mécanismes de résistance ont apparus et sont essentiellement d'origine plasmidique. Ces mécanismes favorisent le transfert horizontal des gènes de la résistance permettant ainsi leur dissémination à l'hôpital, dans la communauté ou même dans l'environnement (Arpim *et al.*, 2005). Les germes résistants les plus rencontrés sont les bacilles à Gram négatif parmi lesquels les espèces les plus importantes en clinique demeurent les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre élargie (BLSE), *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (Lucet et Birgand, 2011). Néanmoins, les entérobactéries  $\beta$ -lactamase à spectre élargie (EBLSE) sont les germes les plus concernés et leur dissémination est mondiale (Emile, 2010).

Devant cette progression constante de la résistance aux antibiotiques, il est important de disposer de données actualisées sur son évolution notamment celle qui concerne les entérobactéries, car ce sont les agents causals les plus fréquents de diverses infections en médecine de ville.

En plus de la détermination du taux de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées dans les laboratoires d'analyses médicales privés, notre étude est également entreprise dans le but de caractériser les phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines de ces souches ainsi que leurs profils de résistance aux autres antibiotiques. Pour ce faire, nous avons adopté la méthodologie suivante :

- ❖ Collecte de souches d'entérobactéries à partir de deux laboratoires d'analyses médicales privés (Dr Ait Bachir et Dr Manseur) de la région d'Akbou avec les données concernant les patients (âge et sexe).
- ❖ Etude des profils de résistance de ces souches aux  $\beta$ -lactamines, aminosides et aux quinolones.
- ❖ Et enfin, détermination des phénotypes de résistances aux  $\beta$ -lactamines.

## I. Mécanismes généraux de la résistance aux antibiotiques

Les bactéries peuvent manifester une résistance aux antibiotiques par plusieurs mécanismes. Certaines espèces sont naturellement résistantes à un antibiotique au minimum. Dans tels cas, toutes les souches de cette espèce bactérienne sont également résistantes à tous les membres de la famille de cet antibiotique (Ploy et *al.*, 2005). D'autres espèces, ont été initialement sensibles aux antibiotiques puis elles sont devenues résistantes, c'est la résistance acquise. Cette résistance est due à l'acquisition d'un plasmide ou d'un transposon qui contient les déterminants de la résistance ou à des mutations au niveau du chromosome (Yoneyama et Katsumata, 2006).

### I.1. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

#### I.1.1. Inactivation des antibiotiques

Elle fait suite à une hydrolyse ou à une modification de l'antibiotique (Kayser et *al.*, 2008). L'inactivation enzymatique des antibiotiques par hydrolyse ou modification est le mécanisme majeur de résistance des bactéries pathogènes aux antibiotiques tels que les  $\beta$ -lactamines (les pénicillines et les céphalosporines), les aminoglycosides et le chloramphénicol. (Yoneyama et Katsumata, 2006).

##### ➤ $\beta$ -lactamases

La production de  $\beta$ -lactamases représente le mécanisme essentiel de la résistance acquise aux  $\beta$ -lactamines (Lambert 1991). Ce sont des enzymes capables d'ouvrir le cycle  $\beta$ -lactam en créant un intermédiaire acyl-enzyme instable, menant au finale à la perte d'un groupement carboxyle (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006; Ruppé, 2010). Elles sont classer selon Ambler en quatre classes : A, B, C et D en se basant sur leur séquence en acide aminés (Bassetti et *al.*, 2008). Les  $\beta$ -lactamases de classe A, C et D comportent dans leur site actif une sérine responsable de l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactam. Les  $\beta$ -lactamases de classe B (métalloenzymes) ont besoin d'un ou deux atomes de zinc ( $Zn^{+2}$ ) pour hydrolyser leur substrat (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006; Ruppé, 2010).

##### ➤ Enzymes modifiant les aminosides

La résistance aux aminosides est essentiellement liée à l'acquisition d'enzyme inactivant ces antibiotiques en modifiant d'une manière covalente les groupements OH et  $NH_2$  de ces antibiotiques (Jehl et *al.*, 2003 ; Yoneyama et Katsumata, 2006 ). Ces enzymes peuvent soit phosphoryler ces antibiotiques par des aminosides phosphotransférases (APH), soit les adényler par des aminosides nucleotidyltransférases (ANT) ou les acétyler par des aminosides acetyltransférases (AAC) (Doi et Arakawa 2007 ; Gamal et *al.*, 2011). Les souches résistantes

aux aminosides empêchent la fixation de l'antibiotique sur les ribosomes avec comme réaction moléculaire une acylation de quelques groupements (OH) (Rolf et Schmid, 2005).

➤ **Enzymes inactivant le chloramphénicol**

La résistance au chloramphénicol est souvent conférée par des chloramphénicol acétyltransférases (CAT). Elles inactivent cet antibiotique par transfert du groupement acétyle à partir de l'acétyl-CoA. Cette inactivation diminue considérablement l'affinité de l'antibiotique pour l'ARNr (Yoneyama et Katsumata, 2006).

### **I.1.2. Altération de la cible**

➤ **Modification mutationnelles de la cible (résistance aux quinolones)**

Des mutations surviennent principalement dans les gènes de l'ADN gyrase (codée par les gènes *gyrA* et *gyrB*) et la topoisomérase IV (codée par le gène *parC*), selon la cible préférentielle de la molécule et selon l'espèce bactérienne. Chez les bactéries à Gram négatif, le premier site de mutations est l'ADN gyrase car elle est la cible principale. L'effet de ces mutations sur l'activité des quinolones dépend de leur type, de leur nombre et de la molécule concernée. Dans la majorité des cas, une seule mutation dans la QRDR (quinolone résistance determining région) de *GyrA* suffit à entraîner une résistance de haut niveau à l'acide nalidixique. En revanche, la résistance à l'ofloxacine peut nécessiter deux mutations, alors qu'il en faudra trois pour la ciprofloxacine (Moudgal et Kaatz, 2009 ; Mérens et Servonnet, 2010).

➤ **Acquisition d'une nouvelle cible (SARM)**

La résistance est due à la présence de protéine de liaison à la pénicilline additionnelle la PLP2a ou PLP2', qui a une très faible affinité pour l'ensemble des  $\beta$ -lactamines. Ces PLP anormales sont codées par un gène chromosomique *mecA* qui appartient à un fragment additionnel d'ADN intégré à l'ADN des souches de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthiciline (SARM). (Lambert, 1991 ; Jehl et al., 2003).

➤ **Contournement de la cible (résistance à la vancomycine)**

L'étude du mécanisme de résistance a montré que la fin du pentapeptide « D-Ala-D-Ala », site de fixation de la vancomycine, est remplacé chez les souches résistantes par une structure d'ester D-Ala-D-acide lactique. Cette modification diminue l'affinité de la cible pour la vancomycine ce qui permet à la cellule de continuer sa croissance en présence de cet antibiotique (Nikaido, 2009).

### I.1.3. Prévention de l'accès des antibiotiques à la cible

La résistance aux antibiotiques peut être aussi due à une diminution de la concentration intracellulaire des antibiotiques par imperméabilité membranaire ou sur expression des systèmes d'efflux (Nordmann, 2003 ; Nordmann, 2005).

#### ➤ **Imperméabilité membranaire (résistance par OprD)**

La résistance aux carbapénèmes chez *P.aeruginosa* offre l'exemple le plus typique et le plus fréquent de la résistance dite par « imperméabilité membranaire ». En effet, la diffusion des carbapénèmes chez le bacille pyocyanique s'effectue préférentiellement par une porine spécifique, OprD, dont la fonction naturelle est de faciliter la diffusion des acides aminés basiques et du gluconate. L'absence, l'altération ou la sous-expression de cette porine sous l'effet de diverses mutations est, dans la très grande majorité des cas, à l'origine de la résistance des souches cliniques de *P.aeruginosa* à l'imipénème (Courvalin et al., 2006). Des altérations du LPS sont également capables de provoquer la résistance au  $\beta$ -lactamines (Lambert, 1991). La présence de LPS modifiées, d'affinité diminuée pour les  $\beta$ -lactamines, associées parfois à une diminution de la perméabilité de la membrane externe confère un bas niveau de résistance à la pénicilline G (Jehl et al., 2003).

#### ➤ **Pompe d'efflux**

Les pompes d'efflux sont des transporteurs transmembranaires utilisés pour exporter des métabolites et des substances toxiques hors de la cellule (Chroma et Kolar, 2010). Ils peuvent être spécifiques et conférer une résistance vis-à-vis d'une seule classe d'antibiotiques (pompes d'efflux des tétracyclines (Tet) ou des macrolides (Mef)). Cependant, la plupart de ces transporteurs peuvent prendre en charge des composés de structures très différentes et contribuer ainsi de manière significative à la multirésistance des bactéries vis-à-vis des antibiotiques (Cattoir, 2004).

AcrAB et MexAB-OprM sont des pompes de type RND (Résistance Nodulation cell Division) définies chez les entérobactéries et *Pseudomonas* respectivement et qui expulsent les  $\beta$ -lactamines, les fluoroquinolones, les chloramphécol, les tétracyclines et les aminosides (Hocquet et al. 2003 ; Xavier et al., 2010).

#### ➤ **Protection de la cible (protéines Qnr)**

La molécule de quinolone arrive intacte au niveau de l'ADN gyrase et de la topoisomérase, mais une protéine à motifs penta peptidiques répété, nommée Qnr, vient interférer dans le complexe ADN gyrase/ADN/quinolones et inhibe l'action des quinolones sur sa cible. En présence de la protéine Qnr, les fonctions de surenroulement, relâchement,

des enchevêtrements de l'ADN gyrase sont rétablies. A ce jour, 5 déterminants différents ont été rapportés, QnrA, QnrB, QnrS, QnrC, QnrD. Il s'agit là encore d'une résistance de bas niveau, puisque les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont multipliées par un facteur 4 à 8 (Mérens et Servonnet, 2010).

## I.2. Mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques

### I.2.1. Plasmides

Les plasmides sont de petits fragments d'ADN double brin, circulaires et cytoplasmiques, capable de répllication autonome leur transmission naturelle d'une bactérie à l'autre s'effectue habituellement par conjugaison. Les plasmides ont été associés à la dissémination de la résistance aux antibiotiques dès leur découverte (Skurnik, 2009). Un plasmide peut porter plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques conférant ainsi en bloc une multi résistance (Ploy *et al.*, 2005).

### I.2.2. Transposons

Les transposons sont des séquences d'ADN capables de promouvoir leur propre transfert d'un réplicon (chromosome ou plasmide) à un autre (Poly, 2005). On décrit trois principaux types de transposons dont les séquences d'insertions (SI), les transposons non-composites et les transposon composites (Skurnik, 2009).

Les transposon composites sont constitués de deux copies d'IS, en orientation directe ou inverse qui peuvent fonctionner de pair et emporter de segment d'ADN qu'elle encadre. Un même couple d'IS peut border des séquences d'ADN différentes forment différents transposons composites. Très souvent, seul l'une des deux IS code pour une transposase fonctionnelle, l'autre codant souvent pour un régulateur de la transposition. Ces structure modulaire contiennent souvent un ou plusieurs gènes de résistance ou catabolique, les plus célèbres étant Tn5, Tn9 et Tn10 conférant la résistance respectivement à la Kanamycine et streptomycine, au chloramphénicol et à la tétracycline. Un spectaculaire exemple d'assemblage de déterminants de résistance est le Tn5385 isolé chez une souche clinique d'*Enterococcus faecalis*. Ce transposon, bordé par deux copies en orientation directe d'IS1216, est probablement le fruit d'une série d'évènements incluant des Co-intégrations de plasmides, des insertions et délétions d'IS et de transposons dont un (Tn552) provient de *Staphylococcus aureus* et porte le gène *blaZ*. Il confère la résistance à la streptomycine (*aadE*), à la Kanamycine et gentamicine (*aacA-aphD*), à la tétracycline /minocycline (*tet(M)*) et à certaines  $\beta$ -lactamines (*blaZ*) (Courvalin, 2006)

### I.2.3. Intégrons de classe 1

Les composants indispensables d'un intégron est un gène *int* codant une recombinase spécifique de site appartenant à la famille des intégrases. Les autres composants essentiels sont, un site adjacent *attI* qui est reconnu par l'intégrase et qui sert de site récepteur pour les gènes cassettes, et un promoteur orienté à la suite qui permet l'expression des gènes cassettes (Skurnik, 2009).

Les intégrons de la classe 1 sont composés de deux régions conservées dites « 5' » et « 3' ». La région conservée « 5' » contient *intI*, la région promotrice capable de transcrire les gènes cassettes insérés et *attI* (site d'attachement de l'intégron). La région 3' conservée contient, quant à elle, un gène tronqué de résistance aux ammoniums quaternaires *qacE*  $\Delta$ 1 et le gène *sulI* de résistance aux sulfamides.

Plus d'une cinquantaine de cassette de résistance ont été identifiées dans les intégrons de classe 1, conférant la résistance aux aminosides, aux  $\beta$ -lactamine, au chloramphénicol et aux quinolones. L'intégrase IntI1 représente le site de recombinaison spécifique (*attI*) permettent la capture des cassettes qui portent le plus souvent des gènes de résistance aux antibiotiques et toujours un site de recombinaison attC (ou élément de 59 pb), ce dernier étant un site d'action de l'intégrase qui permet l'excision ou l'intégration de la cassette (Courvalin, 2006).

## I.3. Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines

### I.3.1. $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE)

Les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A ou D de la classification d'Ambler (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006). Elles sont capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines (C<sub>1</sub>G, C<sub>2</sub>G, C<sub>3</sub>G et C<sub>4</sub>G) excepté les céhamycines et les Monobactames. Elles n'hydrolysent pas les carbapénèmes et sont inhibées par les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases (I $\beta$ L) comme l'acide clavulanique, tazobactam et sulbactam (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006 ; Cattoir, 2008).

Les  $\beta$ -lactamases de type TEM (TEMONEIRA) dérivent par quatre à sept mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 et TEM-2). Ces mutations les rendent capables d'hydrolyser les C<sub>3</sub>G, mais aussi plus vulnérables à l'action des inhibiteurs (acide clavulanique) (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

Les enzymes de type SHV (SulfHydryl Variable) dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale SHV-1 (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006). Les BLSE de type SHV

ont été détectées parmi de nombreuses entérobactéries (notamment *K. pneumoniae*) mais aussi chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* (Cattoir, 2008).

Les  $\beta$ -lactamases de type OXA (Oxacillinase) confèrent la résistance à l'ampicilline et à la céfalotine, et sont caractérisées par une forte activité hydrolytique des pénicillines M (oxacilline, cloxacilline) (Cattoir, 2008). A l'exception de l'OXA-18, elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique. Il y a actuellement 11 BLSE de groupe OXA, dérivant d'OXA-1, OXA-2 et OXA-10 (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006). Les BLSE de type OXA sont principalement retrouvées chez *P. aeruginosa*, mais aussi détectées chez d'autres BGN dont les entérobactéries (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006 ; Cattoir, 2008).

Les CTX-M (Céfotaximase-Munich) sont des  $\beta$ -lactamases plasmidiques les plus répandues. elles ont été rapportées au début de la deuxième moitié des années 80 et leur taux de diffusion, parmi les bactéries et dans la plupart des régions du monde, a augmenté considérablement depuis 1995 (Touati et al., 2006). Ce sont des  $\beta$ -lactamase de classe A qui tiennent leur nom de par leur hydrolyse préférentielle du céfotaxime par rapport à la Céfotaxime (CTX) et (M) pour leur lieu d'isolement (Munich) (Ruppé, 2010)

Elles sont classés en 6 groupes phylogénétiques distincts : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25, CTX-M-45. Les progénitures des gènes codant pour les CTX-M des groupes 1 et 2 et pour celles des groupes 8 et 9 sont respectivement *K. ascorbata* et *K. georgiana* tandis que les sources des CTX-M des groupes 25 et 45 restent inconnues (Cattoir, 2008).

Les CTX-M confèrent une résistance marquée au céfotaxime et au céfépime. En revanche, l'inactivation de la Céfotaxime est plus limitée, à l'exception d'enzymes récemment décrites (CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-27) qui ont une forte capacité hydrolytique pour la ceftazidime. Les CTX-M sont plus fortement inhibées par le tazobactam que par l'acide clavulanique. Dans la majorité des isolats cliniques, ces enzymes sont codées par des plasmides de 60 à 160 Kb, au sein desquels coexistent fréquemment des gènes codant pour d'autres  $\beta$ -lactamases comme TEM-1, TEM-2 ou OXA-1 (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

D'autres types plus rares de BLSE, appartenant à la classe A, incluent BES, GES, IBC, VEB, SFO, TLA, et PER. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique et en général ont le même substrat que TEM et SHV. Les enzymes BES-1, SFO-1 et TLA-1 ont été retrouvées chez les entérobactéries. Les enzymes du type GES, PER, VEB et IBC-2 ont été largement

retrouvées chez *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* mais aussi chez les entérobactéries (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

### I.3.2. Céphalosporinases

Ce sont des  $\beta$ -lactamases de la classe C (AmpC) codées par des gènes chromosomiques ou plasmidique. Ces enzymes sont capables d'hydrolyser les céphalosporines y compris les céphamycines (céfoxitine) ainsi que les pénicillines, mais pas le céfépime. Ces  $\beta$ -lactamases sont résistantes aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases. Une exception doit être notée : l'enzyme ACC-1 ne confère pas de résistance aux céphamycines (Jacoby, 2009).

Chez plusieurs entérobactéries, l'expression des AmpC est minime mais elle est inductible en présence de certaines  $\beta$ -lactamines comme l'imipénème (Jacoby, 2009). Les mutations qui engendrent leur surexpression sont responsables de l'apparition de la résistance aux céphalosporines à large spectre chez *Enterobacter cloacae* et chez les autres espèces productrices naturellement de ces enzymes (Jacoby et Munoz-Price, 2005).

Le gène *ampC* constitutif est faiblement exprimé chez *E.coli* et il est absent chez *Klebsiella* et *salmonella spp*. Cependant ces espèces peuvent acquérir différents sous groupes d'AmpC codés par des plasmides. Ce sont des AmpC dérivées de *Citrobacter freundii* (BIL-1, CMY-2, LAT-1,2), d'*Enterobacter cloacae* (MIR-1, ACT-1) ou encore de *P.aeruginosa* (CMY-1, FOX-1, MOX-1) (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

### I.3.3 Carbapénèmases et les métallo- $\beta$ -lactamases

On connaît trois types de carbapénèmases : Les sérines carbapénèmases (dont fait partie l'enzyme KPC), les métallo- $\beta$ -lactamases (M $\beta$ L) (dont fait partie la NDM-1), et les oxacillinasés (OXA), retrouvées principalement chez les bactéries à Gram négatif non fermentaire tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp* (Pitout, 2010). Les plus importantes en clinique sont actuellement les types KPC, IMP/VIM et OXA-48. Les carbapénèmases de classe A ont une activité qui est totalement ou partiellement inhibée *in vitro* par l'acide clavulanique et le tazobactam alors que les autres types de carbapénèmases ne sont pas inhibés par ces inhibiteurs classiques de  $\beta$ -lactamases (Nordmann et Carrer, 2010).

La carbapénémase de classe D, OXA-48, décrite tout d'abord chez *K. pneumoniae*, hydrolyse beaucoup plus fortement les carbapénèmes et n'hydrolyse pas les C3G et son activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique (Poirel et al., 2004).

Les carbapénèmases de classe B sont des métallo- $\beta$ -lactamases. Ce sont des enzymes dépendantes de la présence d'ion  $Zn^{+2}$ . Ces métallo- $\beta$ -lactamases, le plus souvent



plasmidiques, ont émergé depuis une dizaine d'années chez *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* puis ensuite chez les entérobactéries (Philippon et Arlet, 2006). Il s'agit de nombreuses variétés de  $\beta$ -lactamases de type IMP et VIM, GIM-1. Ces enzymes hydrolysent fortement toutes les  $\beta$ -lactamines à l'exception de l'aztreonam (Nordmann et Carrer, 2010).

## I. Recueil de souches

Notre étude s'est déroulée pendant la période allant du 01 mars au 30 Avril 2012 et a consisté en la collecte de souches d'entérobactéries, isolées de deux laboratoires d'analyses médicales privés de la région d'Akbou (Dr Ait Bachir et Dr Manseur).

Les souches sont isolées de divers prélèvements pathologiques (urine, pus et selle) et sont sélectionnées sur la base de leur résistance aux antibiotiques suivants : céfotaxime, céftazidime, acide nalidixique et/ou gentamicine.

## II. Identification des souches

L'identification des souches retenues est obtenue grâce à un ensemble de tests biochimiques à savoir : le test d'oxydase, la galerie biochimique classique et la galerie API 20 E.

### ➤ Galerie biochimique classique

Elle permet l'étude de plusieurs caractères biochimiques dont :

- Fermentation des sucres et production de gaz et d'H<sub>2</sub>S.
- Recherche de la nitrate-réductase.
- Recherche d'uréase et la production d'indole.
- Etude du type fermentaire (réaction de Voges-Proskauer et RM).
- Utilisation du mannitol et ditermination de la mobilité.
- Utilisation du citrate comme seule source de carbone.

Le principe, les techniques et les règles d'interprétation des tests effectués sont résumés dans le tableau I.

**Tableau I** : Différents tests biochimiques d'identification

Test	Principe du test	Lecture	Interprétation
Utilisation du glucose, lactose, saccharose et production du gaz et de H <sub>2</sub> S Sur gélose TSI*	Ensemencement de la pente par des stries et piqueur centrale Incubation à 37°C/24h	Virage de la pente au jaune	Lactose positif
		Virage du culot au jaune	Glucose positif
		Apparition de bulles ou translocation de la gélose	Production du gaz
		Noircissement du	Production d'

		milieu	H <sub>2</sub> S
Utilisation du citrate sur gélose de Citrate de Simmons *	Ensemencement par stries Incubation à 37°C pendant 1 à 7 jours	Croissance sur la pente et virage du milieu au bleu	Utilisation du citrate
Etude du type fermentaire sur bouillon Clark et Lubs *	Ensemencement et incubation à 37°C/ 48h	Couleur rouge cerise après l'ajout des réactifs VPI et VPII	Formation d'acétoïne
		Coloration rose après l'ajout du réactif RM	Formation des acides mixtes
Dégradation de l'urée et production d'indole sur le milieu liquide Urée-indole *	Ensemencement à partir d'une culture sur milieu solide. Incubation à 37°C/24h	Couleur rouge	Présence d'une uréase
		Anneau rouge en surface après l'ajout du réactif de Kovacs.	Production d'indole
Recherche de la nitrate réductase sur Bouillon nitrate *	Ensemencement à partir d'une culture sur milieu solide. Incubation à 37°C/24h	Couleur rouge après l'ajout des réactifs NRI et NRI	Nitrate réductase positive
Utilisation du mannitol / Mobilité sur Gélose Mannitol Mobilité *	Ensemencement par piqueur centrale Incubation à 37°C/24h	Coloration jaune du milieu	Fermentation du mannitol
		Difusion homogène	Mobilité
Recherche des oxydases	Dépôt d'une colonie d'une culture fraîche sur le disque d'oxydase	Couleur rose foncée puis violette au niveau du dépôt de la colonie	Oxydase positive

Production d'indole à 44°C sur milieu E.P.E.I*	Ensemencement à partir d'une culture sur milieu solide. Incubation à 44°C/24h	Anneau rouge en surface après l'ajout du réactif de Kovacs	Production d'indole
--	---	--	---------------------

\* La composition de ces milieux est donnée en annexe II.

Pour confirmer l'identification de nos souches nous avons procédé à une identification par la galerie API 20E (Biomérieux).

#### ➤ **Galerie API 20E (Biomérieux)**

- Elle consiste à réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide et on place la galerie dans la boîte d'incubation.
- Puis prélever quelques colonies et on prépare une suspension bactérienne. Remplir les **tubes et cupules** des tests **CIT**, **VIP** et **GEL** avec la suspension bactérienne.
- Remplir **uniquement les tubes** (et non les cupules) des autres tests.
- Et créer une anaérobiose dans les tests **ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE** en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Et enfin, on referme la boîte et on incube à 37°C pendant 18 à 24 h.

#### **Lecture de la galerie**

- ✓ Si le glucose est positif et /ou 3 tests ou plus sont positifs, on note sur la fiche des résultats toutes les réactions spontanées puis on révèle les tests nécessitant l'addition de réactifs (TDA, VP, NO<sub>2</sub> et Indole).
- ✓ Si le glucose est négatif et le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs est inférieur à 3, on réincube la galerie 24 h de plus sans rajouter les réactifs. Après cette deuxième incubation, on révèle les tests nécessitant l'addition des réactifs (Leyral et Joffin, 1998).

### **III. Etude de la sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques**

Au cours de notre étude nous avons déterminé la sensibilité des souches d'entérobactéries vis-à-vis de 10 antibiotiques (Tableau II) appartenant à différentes familles d'antibiotiques par la technique d'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2010.

L'inoculum a été préparé à partir d'une culture de 18 à 24h, en dissociant 3 à 5 colonies identiques et bien séparées dans 3 ml d'eau physiologique stérile.

### ➤ Ensemencement

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage à partir d'une dilution à 1/10<sup>ème</sup> de la suspension préparée (Communiqué du CFA-SFM, 2010).

Puis les disques d'antibiotiques sont déposés à l'aide d'une pince stérile à distance de 20 à 25 mm.

### ➤ Lecture

On mesure à l'aide d'un pied à coulisse les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques. L'interprétation en sensible (S) intermédiaire (I) ou résistante (R) est effectuée selon les critères définis par le CFA-SFM (Communiqué du CFA-SFM, 2010) (Annexe IV).

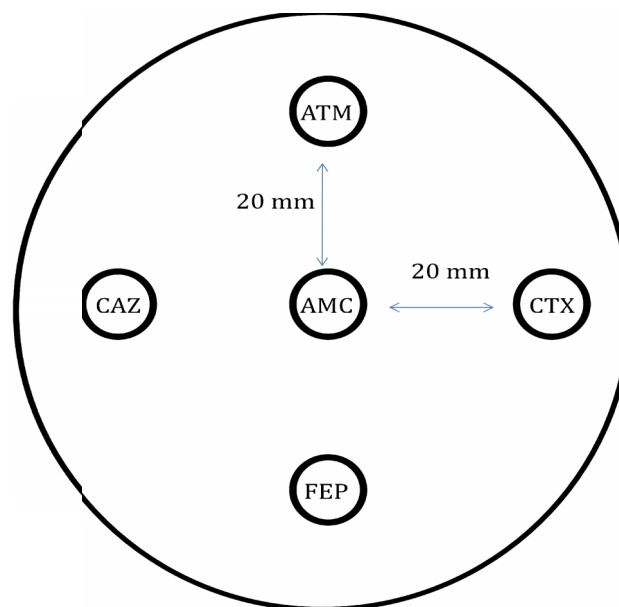
**Tableau II : liste des antibiotiques testés.**

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Marque
β-lactamine	Amoxicilline/clavulanate	AMC	20/10	BIO-RAD®
	Amoxicilline	AMX	25	BIO-RAD®
	Céfotaxime	CTX	30	BIO-RAD® HIMEDIA®
	Céftazidime	CAZ	30	LIOFLICHEM®
	Céfoxitine	FOX	30	BIO-RAD® LIOFLICHEM®
	Céfépime	FEP	30	BIO-RAD®
	Aztréonam	ATM	30	BIO-RAD®
	Imipénème	IPM	10	BIO-RAD®
Quinolone	Ciprofloxacine	CIP	5	BIO-RAD®
Aminosides	Gentamicine	GEN	15	BIO-RAD®

#### IV. Détermination des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines

##### ➤ Détection des BLSE par DD-test

La production d'une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi a été détectée par l'épreuve de la synergie qui consiste à placer des disques de ceftazidime (CAZ), céfotaxime (CTX), céfépime (FEP) et aztréoname (ATM) (30  $\mu$ g chacun) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (AMC) (Figure 01). L'augmentation de la zone de l'inhibition entre le disque d'augmentin et les disques de ceftazidime, céfotaxime, céfépime et/ou aztréonam indique la production d'une BLSE (Jarlier et *al.*, 1988).



**Figure 01** : Mise en évidence de la production d'une BLSE par le DD-test

##### ➤ DD-test sur gélose à la cloxacilline

Chez les souches naturellement productrices de céphalosporinases telle que *Enterobacter sp*, la présence d'une BLSE peut être masquée du fait de l'induction de la céphalosporinase par le clavulanate. Dans ce cas, nous avons refait le DD-test en utilisant la gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline (250 et 500  $\mu$ g/ml) dans le but d'inhiber l'activité céphalosporinase. La comparaison des diamètres d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline permet de mettre en évidence la présence d'une BLSE et/ ou d'une céphalosporinase (Giraud-Morin et Fosse, 2008).

Ce test est également effectué pour les souches qui ne sont pas naturellement productrices d'AmpC mais résistantes à la céfoxitine (FOX).

## I. Collecte de souches bactériennes

Au cours de notre étude, réalisée dans deux laboratoires d'analyses médicales privés de la région d'Akbou (Dr Ait Bachir et Dr Manseur) durant la période allant du 01 mars au 30 Avril 2012, nous avons collecté **66** souches d'entérobactéries à partir de différents prélèvements pathologiques. Les résultats de l'identification selon les caractéristiques biochimiques sont donnés en annexe VI.

### I.1. Répartition des souches par type de prélèvement

Nous avons noté au cours de notre étude que les souches d'entérobactéries sont le plus souvent isolées des prélèvements urinaires avec un pourcentage de **90,91** %, (tableau III).

**Tableau III : Répartition des souches d'entérobactéries par type de prélèvement.**

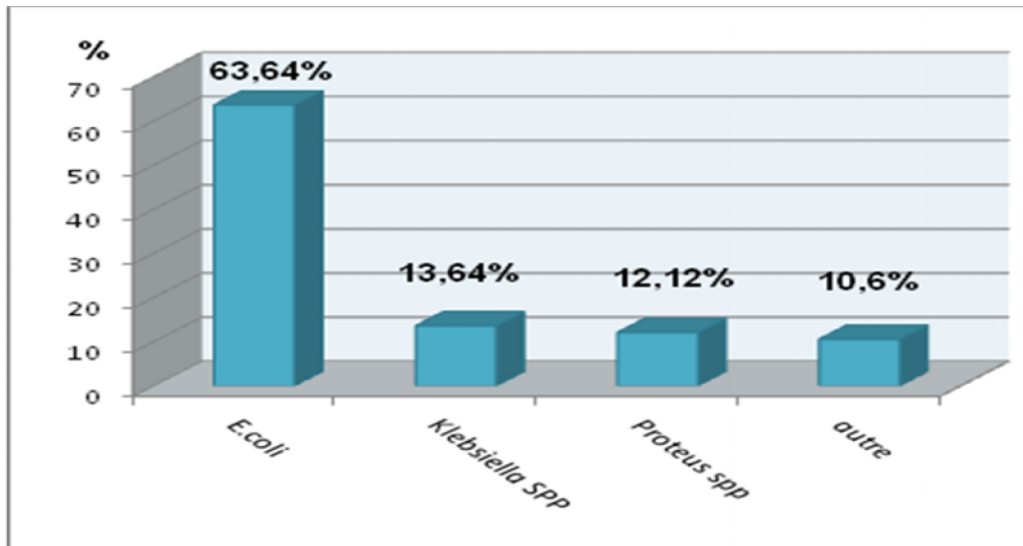
	Type de prélèvement		
	Urine	Autres	Total
<b>Nombre de souches</b>	60	06	66
<b>%</b>	<b>90,91</b>	9,09	100

*Autres : pus et selles.*

En effet, la pathologie des infections urinaires est fréquente aussi bien en milieu communautaire qu'hospitalier (Sekhsokh et *al.*, 2008). Dans les études citées par Lahlou Amine et coll. (2008), il y a environ 150 million de cas d'infection urinaire dans le monde dans la période allant d'octobre 2006 à octobre 2008.

### I.2. Répartition des souches d'entérobactéries par espèces

La figure ci-dessous montre la répartition des souches d'entérobactéries isolées par espèces.



Autres : *Citrobacter sp* et *Enterobacter sp*

**Figure 02 : Répartition des souches d'entérobactéries par espèces.**

La répartition des souches par espèces nous montre que les souches d'entérobactéries sont représentées essentiellement par l'espèce *E.coli* avec un taux de **63.64%**, suivie par *Klebsiella spp* avec un taux de 13.64% et *Proteus sp* avec un taux de 12.12%.

L'espèce *E. coli* est la principale espèce bactérienne impliquée dans les infections urinaires et spécialement dans celles non compliquées du tractus urinaire, mais bien d'autres germes peuvent être rencontrés (*Proteus*, *Klebsiella* et *Enterobacter sp*) (Lemort et al., 2006).

Dans les études citées par Tagajdid et coll. (2010), Pilly rapporte qu'*E.coli* est responsable de 60 à 80% des infections urinaires en milieu communautaire. L'infection par ces germes s'explique par la physiopathologie ascendante de l'infection urinaire à partir de la flore uréthrale (colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive) et par la présence de facteurs spécifiques d'uropathogénicité (adésine et uréase) (Ben Abdallah et al., 2008).

Nos résultats se rapprochent des résultats de l'étude réalisée par Ben Abdallah et coll. (2008), tel que les entérobactéries ont représenté 91 % des isolats et le taux d'isolement d'*E coli* était de 76%. Parmi les entérobactéries isolées, *Klebsiella sp.* vient en deuxième position avec des taux variables selon les études, cette bactérie était isolée dans 10,5% des cas durant la période 2002 et 2005.



### I.3. Caractéristiques de la population étudiées

#### ➤ Selon le sexe

D'après nos résultats, les femmes présentent un taux d'infection plus élevé avec un pourcentage 74.24% par rapport aux hommes qui présentent un taux de 25.76%. Cette répartition est illustrée par le tableau IV.

**Tableau IV : Répartition des souches selon le sexe des patients**

Sexe	Type de prélèvement	Nombre d'individus	pourcentage%	
Femme	Urinaire	45	<b>68,18</b>	<b>74,24</b>
	Autres	4	6,06	
Homme	Urinaire	15	22,73	25,76
	Autres	02	3,03	
Total		66	100	

En effet, les infections urinaires sont beaucoup plus fréquentes chez la femme que chez l'homme à cause de l'anatomie de l'appareil urinaire (urètre court, faible osmolarité des urines durant la grossesse ...) chez elle (Caron et *al.*, 2008).

#### ➤ Selon l'âge

La figure 03 montre que les taux d'infection obtenus sont variables chez les différentes catégories d'âge, la tranche d'âge allant de 35 ans à 64 ans est la plus touchée par rapport aux autres tranches avec un taux 36.36%. Ces résultats peuvent s'expliquer par l'activité sexuelle et la procréation chez la femmes appartenant à cette catégorie d'âge (Borjilat et *al.*, 2009).

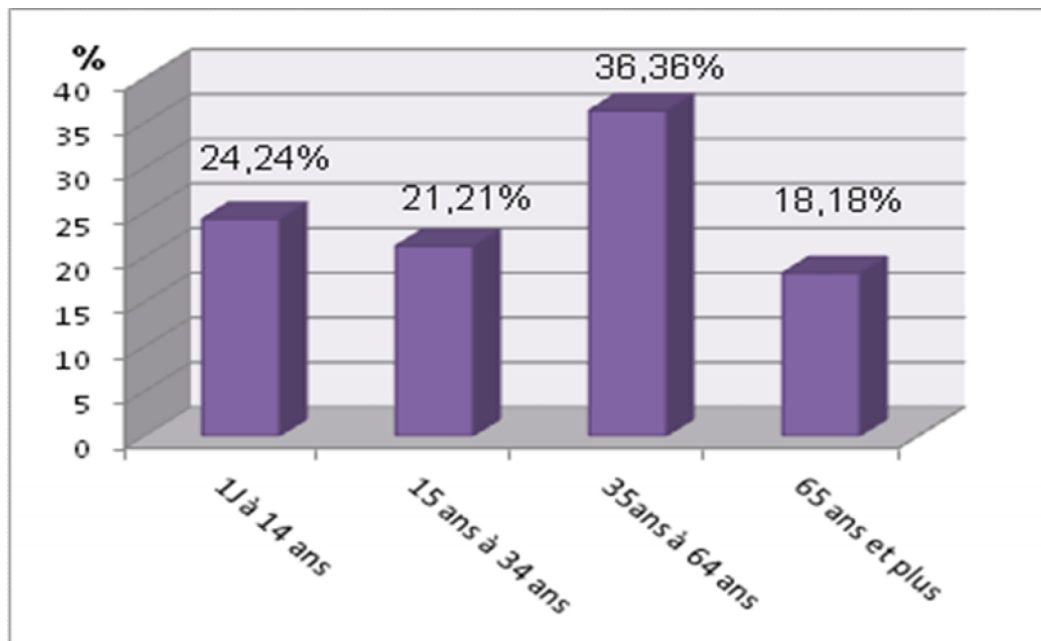


Figure 0 3 : Répartition des souches selon l'âge des patients

## II. Résistance des souches d'entérobactéries aux antibiotiques

### II.1. Résistances aux $\beta$ -lactamines

Sur 66 souches des d'entérobactéries, 10 souches sont résistantes ou intermédiaires aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération dont 06 souches sont isolées au niveau du laboratoire du Dr Ait Bachir et 04 au niveau du laboratoire du Dr Manseur.

Les résultats de l'antibiogramme présentés dans le tableau V montre que 15.15% (10/66) sont résistantes au CTX et/ou CAZ. Sur le total des souches isolées au niveau du laboratoire Dr Ait Bachir, 12% des souches sont résistantes au CTX et/ou CAZ alors que le taux de résistances au niveau du laboratoire Dr Manseur est de 25%.

Des taux de résistances plus bas, de 5.8% et de 6.66% ont été rapportés par des études réalisées au niveau des hôpitaux de la région de Bejaia par Touati en 2006 et par Djoudi en 2007 (Touati, 2006 ; Djoudi, 2007).

#### II.1.1 Répartition des souches résistantes aux C3G par espèce

Au cour de notre étude, les souches isolées résistantes aux C3G appartiennent majoritairement à l'espèce *E.coli* (8/10), suivie par les souches du genre *Enterobacter sp* (2/10). Le tableau ci dessous donne la répartition des souches résistantes aux C3G par espèces.

**Tableau V: Répartition des souches résistantes aux C3G par espèce**

Souche	<i>E.coli</i>	<i>Klebsiella sp</i>	<i>Proteus sp</i>	Autre	Total
N° de souches sensibles	34	9	8	5	56
N° de souches C3G R	8	00	00	02	10
Total	42	9	8	7	66
% de résistance	19,04	00	00	28,57	15,15

Autres : *Citrobacter sp* et *Enterobacter spp*

C3G R : résistantes aux céphalosporines de troisième génération.

### III. Analyse des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines

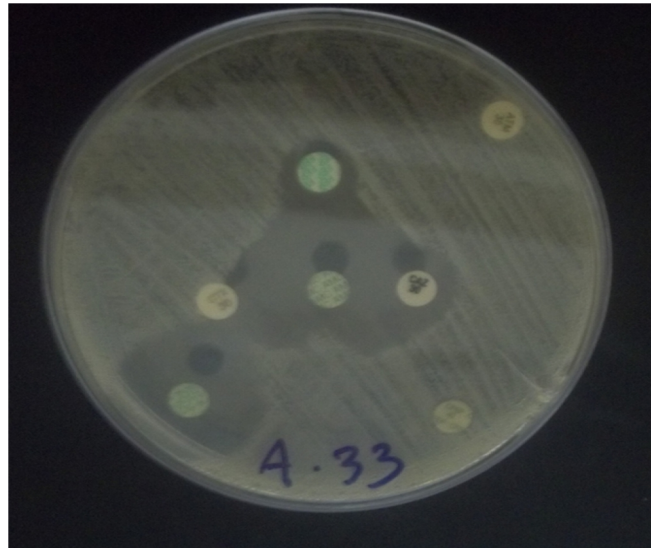
#### III.1. Recherche des $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE)

La détermination des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines est faite selon le profil de résistance aux  $\beta$ -lactamines et par la recherche de l'image de synergie sur gélose Mueller Hinton ou Mueller Hinton additionnée de la cloxacilline.

##### III.1.1. DD-test

Le DD-test effectué pour les souches d'entérobactéries résistantes aux C3G a révélé la présence d'une image de synergie pour 8/10 des souches ce qui indique la présence d'une BLSE, et que 2/10 sont négatives pour le test.

La figure 05 montre une image de synergie pour la souche A33 productrice de BLSE



**Figure 04 : image de synergie pour la souche A33 productrice de BLSE**

Les résultats du DD-test ainsi que les profils de résistance aux  $\beta$ -lactamines des souches résistantes aux C3G sont montrés dans le tableau IX.

**Tableau VI : Diamètres (mm) des zones d'inhibition du DD-test**

Code	Espèce	Diamètres (mm)					Synergies
		AMC	CTX	CAZ	FEP	FOX	
A5	<i>E.coli</i>	R(14)	R(16)	S(21)	R(10)	S(26)	Présence
A10	<i>E.coli</i>	R(12)	R(16)	S(20)	S(18)	S(26)	Présence
A24	<i>E.coli</i>	S(20)	R(12)	R(16)	R(14)	S(25)	Présence
A33	<i>E.aerogenes</i>	R(12)	R(6)	R(12)	R(10)	R(10)	Présence
A41	<i>E.coli</i>	R(8)	R(6)	R(12)	R(10)	S(18)	Présence
A45	<i>E.coli</i>	S(20)	R(18)	S(28)	S(22)	S(28)	Présence
M4	<i>E.coli</i>	R(6)	I(24 ??)	I(18)	S(31)	R(13)	Absence
M5	<i>E.coli</i>	R(8)	R(12)	R(16)	R(16)	S(26)	Présence
M18	<i>E.aerogenes</i>	R(9)	R(10)	R(10)	R(14)	R(6)	Présence
M19	<i>E.coli</i>	R(6)	R(21)	R(11)	S(30)	R(10)	Absence

R : Résistant, S : Sensible, I : Intermédiaire.

### III.1.2. DD-test sur gélose Mueller-Hinton additionné de cloxacilline

Les souches n'ayant pas présenté d'image de synergie pour le DD-test et qui sont, soit naturellement productrices de céphalosporinases, soit présentent une résistance vis-à-vis de la céfoxitine (FOX) sont testées une deuxième fois par addition de cloxacilline à la gélose Mueller-Hinton à une concentration finale de 250 $\mu$ g /ml, puis 500 $\mu$ g/ml s'il n'y pas de

récupération. Seules les souches qui présentent une récupération de 6 mm ou plus dans les diamètres des zones d'inhibition qui sont considérées positives pour le test.

Les diamètres des zones d'inhibition de ces souches sur gélose MH puis sur gélose MH additionnée de la cloxacilline sont donnés par le tableau X.

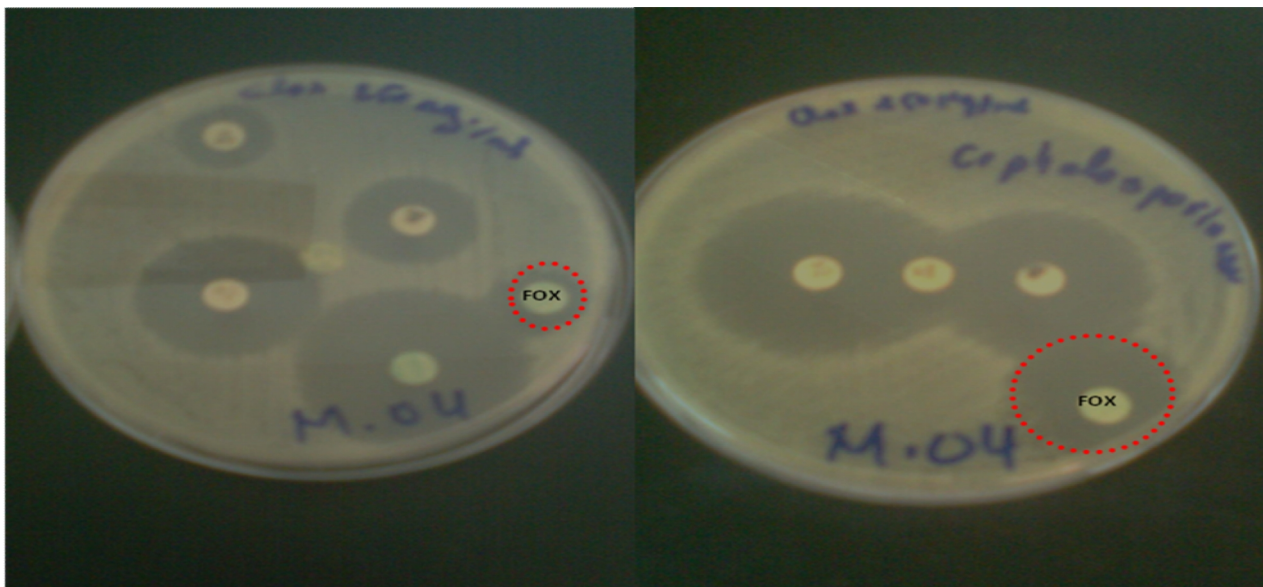
**Tableau VII : diamètres des zones d'inhibition sur gélose Mueller-Hinton avec et sans cloxacilline**

Code	souches		AMC	CTX	CAZ	FEP	FOX	Synergie
M4	<i>E.coli</i>	MH	R(6)	S (25)	I(18)	S(31)	R(13)	Absence
		MHC	R(14)	S(32)	S(30)	/	S(30)	
M19	<i>E.coli</i>	MH	R(6)	R(21)	R(11)	S(30)	R(10)	Absence
		MHC	S(26)	S(32)	S(32)	S(40)	S(28)	

MH : **Mueller-Hinton**.

MHC : **Mueller-Hinton** additionnée à la cloxacilline.

L'augmentation des diamètres des zones d'inhibitions autour des disques de CTX, CAZ, FEP et FOX ainsi que l'absence d'image de synergie suggère que les souches M 4 et M19 (figure N° 6) sont probablement résistantes par production d'une céphalosporinase plasmidique.



Sans cloxacilline

avec cloxacilline

**Figure 05 : Phénotype d'hyperproduction de céphalosporinase pour la souche M4**

Il est connu qu'*E.coli* possède naturellement un gène chromosomique (*ampC*) codant pour la céphalosporinase, mais qui n'est exprimé à bas niveau à cause de la présence d'un promoteur faible et d'un atténuateur de transcription (Schimidtke et Hanson, 2006). Cependant, des mutation au niveau du promoteur d'AmpC peuvent conduire à la surexpression de la céphalosporinase (mutants dérprimé) (Mammeri et al., 2008).

Cette résistance chez *E.coli* peut également être associée à l'acquisition d'un gène *ampC* plasmidique (Mammeri et al., 2008). Les céphalosporinases plasmidiques retrouvées chez *E.coli* sont de type CMY2, CMY-8b (Singtohin et al., 2010), DHA-1, CMY-6 (Yoo et al., 2010) et ACC (Mammeri et al., 2008).

### III.1. 3. Déduction des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines

L'analyse des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines est représentée dans le tableau XI.

La déduction des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines testées est basée sur les critères suivant :

- La résistance naturelle de la souche ;
- Résistance aux CTX et CAZ ;
- Résistance aux C4G (FEP);
- Présences ou absence d'image synergie sur gélose MH et MH additionné à la cloxacilline.

**Tableau VIII : Déduction des phénotypes**

Code	Espèce	CTX	CAZ	FEP	FOX	Synergie	Phénotype probable
A5	<i>E.coli</i>	R(16)	S(21)	R(10)	S(26)	Présence	CTX-M
A10	<i>E.coli</i>	R(16)	S(20)	S(18)	S(26)	Présence	CTX-M
A24	<i>E.coli</i>	R(12)	R(16)	R(14)	S(25)	Présence	CTX-M
A33	<i>E.aerogenes</i>	R(6)	R(12)	R(10)	R(10)	Présence	CTX-M
A41	<i>E.coli</i>	R(6)	R(12)	R(10)	S(18)	Présence	CTX-M
A45	<i>E.coli</i>	R(18)	S(28)	S(22)	S(28)	Présence	CTX-M
M4	<i>E.coli</i>	I(24)	I(18)	S(31)	R(13)	Absence	AmpC

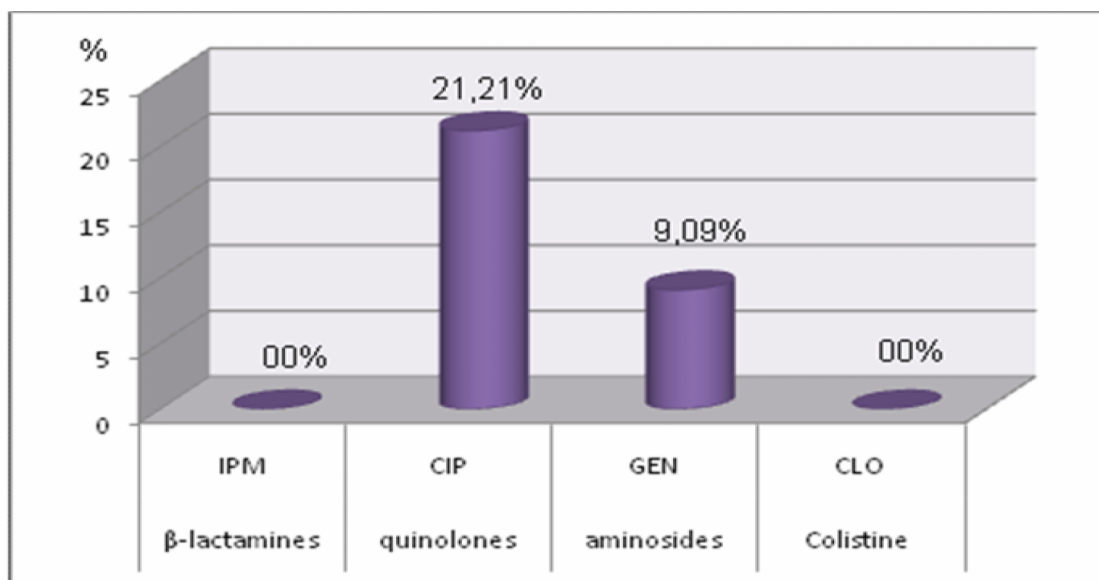
M5	<i>E.coli</i>	R(12)	R(16)	R(16)	S(26)	Présence	CTX-M
M18	<i>E.aerogenes</i>	R(10)	R(10)	R(14)	R(6)	Présence	CTX-M
M19	<i>E.coli</i>	R(21)	R(11)	S(30)	R(10)	Absence	AmpC

La détermination du type de BLSE produite par les souches d'entérobactéries résistantes aux C3G (céfotaxime et /ou Céftriaxime) a révélé que le type CTX-M, est le plus dominante tel que 8/10 des souches sont de ce phénotype. Ces souches sont A5, A10, A24, A33, A41, A45, M5 et M18. Effectivement, les BLSE de type CTX-M sont les enzymes les plus répandues, entre une large gamme de bactérie clinique, en particulier les membres de la famille des entérobactéries (Ben Achour et *al.*, 2009).

Les souches M4 et M19 sont de phénotype AmpC. Les céphalosporines semblent moins fréquentes que les BLSE (Bush, 2010). Cependant, leur prévalence est probablement sous-estimée car leur détection est difficile (Jacoby, 2009).

## VI. Profils de résistance des souches d'entérobactéries aux autres antibiotiques

La figure ci-dessous montre le taux de résistance des souches d'entérobactéries aux différents antibiotiques testés.



**Figure 06 : Profils de résistance des souches d'entérobactéries aux autres antibiotiques**

Les souches d'entérobactéries sont naturellement sensibles à toutes les molécules des quinolones et de fluoroquinolones. Cependant, au cours de notre étude, au total 14 /66

(21,21%) souches d'entérobactéries sont résistantes à la ciprofloxacine. La plus part de ces souches résistantes sont d'origine urinaire, et que la majorité des souches résistantes à la ciprofloxacine appartient aux espèces *E.coli* (9/14) avec un taux de 64,28%.



Au terme de cette étude, 66 souches d'entérobactéries isolées de différents types de prélèvements pathologique, on été collectées du milieu communautaire. La majorité de ces souches sont d'origine urinaire **90.91%** et l'espèce la plus fréquemment isolées est *E.coli* avec un taux de **63.64%**.

L'étude de la résistance des souches a révélé des taux important vis-à-vis des différentes familles d'antibiotiques testés, plus particulièrement vis-à-vis de la famille des  $\beta$ -lactamines(C3G).

Au totale, 10/66 des souches d'entérobactéries sont résistante aux C3G soit un taux de 15,15%.

Les résultats du DD-test et du DD-test additionnée à la cloxacilline ont révélé un taux de 12,12% de souches suspectées d'être productrice de BLSE et un taux de 3,03% de souches suspectées d'être productrice de céphalosporinases

Les résultats de cette étude nous rappellent bien le problème inquiétant que représente la résistance aux antibiotiques. L'usage abusif des antibiotiques en traitement curatif, dans l'aquaculture et en médecine vétérinaire à conduit au développement de résistance et à la dissémination de nouveaux mécanismes due essentiellement au transfert horizontal des gènes (*Qnr*, BLSE)

La surveillance de l'évolution de la résistance aux antibiotiques dans le temps et dans l'espace nous permettra d'éviter plusieurs impace thérapeutique. L'étude de c'est mécanismes de résistance peut également aider dans la recherche de nouvelle molécules antimicrobiennes

Notre étude reste préliminaire car elle est limitée dans l'espace, dans le temps et en terme de moyens. Elle doit être élargie sur plusieurs axes et constitué un projet de recherche qui pourra fédérer toutes les actions de recherche spontanées réalisées autour des phénomènes de résistance. Elle pourrait être complétée en :

- Etudiant un plus grand nombre de souches, incluant des bactéries Gram positives et Gram négatives pendant plusieurs années et de rendre ainsi l'étude statistique plus fiable.
- Traitant d'autres facteurs de risque dans l'acquisition de la multirésistance (antibiothérapie, l'hospitalisation préalable, diabète, sondage urinaire,.....).
- Réalisant une étude dans le but d'élargir la gamme d'antibiotiques testés.

- ❖ **Arpin C, Dubois V, Maugein J, Jullin J, Dutith B, Brochet P-J, Larribet G, Fischer I, and Quentin C.** Clinical and molecular analysis of extended- spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteria in the community setting. *Journal of Clinical Microbiology* 2005; **43**: 5048-5054.
  
- ❖ **Bassetti M, Righi E et Viscoli C.** Novel  $\beta$ -lactam antibiotics and inhibitor combinations. *Expert Opinion* 2008 ; 17 (3) : 285- 296.
  
- ❖ **Ben Abdallah H., Sahnoun O., Ben Romdhane F., Loussaïef C., Noomen S., Bouzouaïa N., Chakroun M., Mastouri M.** Profil de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes isolées dans la région de Monastir. *Rev Tun Infectiol* 2008 ; **02** (02) : 5-8.
  
- ❖ **Ben Achour N., Mercuri P.S., Power P., Belhadj C., Ben Moussa M., Galleni M., Belhadj O.** First detection of CTX-M-28 in a Tunisian hospital from a cefotaxim-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain. *Pathologie Biologie* 2009; **57**: 343-348.
  
- ❖ **Bonnet R.**  $\beta$ -lactamine et entérobactéries. In: Courvalin P, Lecclerc R, Bingen E, eds. *Antibiogramme*, 2<sup>ème</sup> édition. ESKA, Paris; 141-162. Bush K.2010. Alarming  $\beta$ -lactamase- mediated resistance in multidrug- resistant Enterobacteriaceae. *Current Opinion in Microbiology*.2006; 13,558-564.
  
- ❖ **Bourjilat F, Dersi N, Bouchrif B, Amarouch H, Timinouni M.** profil de résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* uropathogènes communautaires au Maroc. *European Journal of Scientific Research*. 2009 ; 38, 57-62.
  
- ❖ **Bush Karen and Jacoby George A.** Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemiotherapy* 2010; **54** (3): 969-976.
  
- ❖ **Carle S.** La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*.2009 ; 42, 6-21.
  
- ❖ **Caron F, Galperine T, Dumarcet N, Azria R, Bingen E, Botto H, Cavallo DJ, Chartier-Kastler E, Dacher JN, Diatta T.** recommandation de bonne pratique diagnostic et antibiothérapie des infections bactérienne communautaire chez l'adulte. *Med Mal Infect*. 2008 ; 28, 203-252.
  
- ❖ **Cattoir V.** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie* 52.2005 ;607-616.

- ❖ **Cattoir Vincent.** Les nouvelles bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). MAPAR 2008 : 204-209.
- ❖ **Chroma M, Kolar M.** Genetic methods for detection of antibiotic resistance: Focus on extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.2010; 54,289-296.
- ❖ **Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.** Communiqué 2010.
- ❖ **Courvalin P, Leclercq R, Bingen E.** Antibiogramme. 2<sup>ème</sup> Edition: ESKA. 2006; ISBN 2-7472-0907-5.Paris. 693p.
  
- ❖ **Djoudi F.** Etude des profils de résistance aux  $\beta$ -lactamines de souches hospitalières dans la wilaya de Bejaia [thèse de magister]. Université A/MIRA,2007.p.1-70.
- ❖ **Doi Y et Arakawa Y.** 16S Ribosomal RNA Methylation: Emerging resistance mechanism against aminoglycosides. Antimicrobial Resistance, Clinical Infectious Diseases 2007; 45: 88-94.
  
- ❖ **E mile C.** Faut-il avoir peur des *Escherichia coli* BLSE. Epidémiologie. 2010 ; 433, 12-13.
  
- ❖ **Gamal F.Gad, Heba A. Mohamed et Hossam M. Ashour.** Aminoglycoside resistance rates, phenotypes, and mechanisms of Gram-Negative bacteria from infected patients in Upper Egypt. PLOS ONE; February 2011; 06; 02; e17224.
- ❖ **Giraud-Morin C, Fosse T.** Evolution récente et caractérisation des entérobactéries productrices de BLSE au CHU de Nice (2005-2007). Pathologie Biologie 2008; **56**: 417-423.
- ❖ **Gueudet T, Richter S, Szulc M, Jehl F.** les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques : deux cas de *Klebsiella pneumoniae* produisant une céphalosporinase plasmidique. Médecine et maladies infectieuses.2010 ; 40, 177-179.
- ❖ **Guiraud JP.** Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris ISBN 210 007259. 2003. 651p.
  
- ❖ **Hocquet D, El Garch, Vogne C, Plésiat P.** Mécanisme de la résistance adaptative de *Pseudomonas aeruginosa* aux aminosides. Pathologie Biologie.2003 ; 51,443-448.

- ❖ **Jacoby A.G. and Munoz price L.S.** The new  $\beta$ -lactamases. The New England journal of medicine 2005; **352**: 380-391.
- ❖ **Jacoby G.A.** AmpC  $\beta$ -lactamases. Clinical Microbiology Reviews 2009; **22** (1): 161-182.
- ❖ **Jarlier, V., M. H. Nicolas, G. Fournier, and A. Philippon.** Extended-broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis. 1988; **10**:867-878.
  
- ❖ **Kader AA, Kumar A, Kamath KA.** Fecal carriage of extended- spectrum  $\beta$ -lactamase – producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in patients and asymptomatic healthy individuals. Infect Control Hosp Epidemiol.2007; 28, 1114-1116.
- ❖ **Kayser FH, Bottger EC, Zinkernagel RM, Haller O, Eckert J, Deplazes P.** Manuel de poche de Microbiologie médicale. Traduction de la 11<sup>e</sup> édition : Médecine- Sciences Flammarion 2008.
  
- ❖ **Lahlou Amine I, Chegri M, L’Kassmi H.** Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d’infections urinaires à l’hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. antibiotique. 2009 ; 11, 90-96.
- ❖ **Lambert T.** Mécanismes de résistance aux Bêtalactamines. Journal de Pédiatrie et de Puériculture 1991, N° 4.
- ❖ **Lemort M.-L., Neuville S., Medus M., Gueudet P., Saada M., Aumaître H., Lecaillon E.** Evolution comparée de la sensibilité de souches de *Escherichia coli* isolées d’infections urinaires de patients consultant aux urgences et de patients hospitalisés en 2002 et 2004 à l’hôpital de Perpignan. Pathologie Biologie 2006 ; **54** : 427-430.
- ❖ **Leyral G, Joffin JN,** Microbiologie technique. Documentation technique, 2<sup>ème</sup> édition. Centre régional de documentation pédagogique d’Aquitaine.1998
- ❖ **Lucet JC, Birgand G.** les bacilles à Gram négatif multirésistants : où va-t-on ? journal des Anti-infectieux. 2011, 13, 122-132.
- ❖ **Mammeri H, François Eb, Berkani A, Nordmann P.** Molecular characterization of AmpC-producing *Escherichia coli* clinical isolates recovered in a French hospital. Journal of Antimicrobial Chemotherapy.2008; 61, 498-503.
- ❖ **Mérens A., Servonnet A.** Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux

fluoroquinolones en 2010. Revue Francophone des Laboratoires 2010 ; N°422//33.

- ❖ **Mesaros N, Van Bambeke F, Glupczynski Y, Vanhoof R, Tulkens PM.** L'efflux des antibiotiques : un mécanisme ubiquitaire conduisant à la résistance. Etat de la question et implications microbiologique et cliniques. Louvain Médical.2005 ; 124, 308-320.
- ❖ **Moudgal Varsha V., Kaatz Glenn W.** Fluoroquinolone resistance in bacteria. Humana Press, a Part Of Springer Science +Business Media, LLC 2009; 10.1007/978-1-59745-180-2\_16.
- ❖ **Nikaido H.** Multidrug Resistance in Bacteria. Annu Rev Biochem 2009; 78: 119-146.
- ❖ **Nordmann P, Carrer A.** les carbapénèmes des entérobactéries. Archives de pédiatrie.2010 ; 17, S154-162.
- ❖ **Nordmann P.** L'émergence de la résistance plasmidique aux quinolones chez les entérobactéries. Pathologie Biologie. 54.2005; 7-9.
- ❖ **Nordmann P.** Mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines de *Pseudomonas aeruginosa*. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation 2003; **22** : 527-530.
- ❖ **Philippon A., Arlet G.**  $\beta$ -Lactamases de bacilles à Gram négatif: le mouvement perpétuel ! Ann Biol Clin 2006 ; **64** (1): 37-51.
- ❖ **Pitout JDD.** The latest threat in the war on antimicrobial resistance. Lancet Infect Dis.2010; 10, 578-579.
- ❖ **Ploy M.-C., Gassama A., Chainier D., Denis F.** Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques. Immuno-analyse & Biologie spécialisée 2005 ; **20** :343-352.
- ❖ **Poirel L, Héritier C, Nordmann P.** chromosomally encoded ampicillin class D  $\beta$ -lactamases of *Shewanella oneidensis* as a progenitor of carbapenem-hydrolyzing oxacillinase. Antimicrob Agents Chemother.2004; 48, 348-51.
- ❖ **Rodriguez-Villalobos H et Struelens MJ.** Résistance bactérienne par  $\beta$ -lactamase à spectre étendu : implication pour le réanimateur. Réanimation 15 (2006) 205- 213.
- ❖ **Ruppé E.** Epidémiologie des beta-lactamase à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. Antibiotiques 2010 ; 12, 3-16.
- ❖ **Schmid et Rolf D.** Atlas de poche Biotechnologie et de génie génétique. Médecine-Sciences Flammarion 2005.

- ❖ **Schmidtke AJ, Hanson ND.** Model system to evaluate the effect of AmpD mutations on AmpC-mediated  $\beta$ -lactam resistance. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*.2006; 56,111-118.
- ❖ **Sekhsokh Y., Chadli M., El Hamzaoui S. A.** Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecine et maladies infectieuses* 2008 ; **38** : 324-327.
- ❖ **Singtohin S, Chanawong A, Lulitanond A, Sribenjalux P, Auncharoen A, Kaewkes W, Songsri J, Pienthaweechai K.** CMY-2, CMY-8b, and ADH-1 plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamase among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from a university hospital, Thailand. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.2010; 68, 271-277.
- ❖ **Skurnik D.** Les intégrons : structure et épidémiologie. *Antibiotiques* 2009 ; **11** :116-129.
- ❖ **Tagajdid M.R., Boumhil L., Iken M., Adnaoui M., Benouda A.** Etude de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées dans les urines aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération. *Médecine et maladies infectieuses* 2010 ; **40** : 70-73.
- ❖ **Touati A, Benallaoua S, Forte D, Madoux J, Brasme L, Champs C.** First report of CTX-M-15 and CTX-M-3  $\beta$ -lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Béjaia. *International Journal of Antimicrobial Agents*2006; 27: 408-413.
- ❖ **Touati A.** Caractérisation des phénotypes de résistance des entérobactéries aux  $\beta$ -lactamines isolées en milieu hospitalier : cas de deux hôpitaux de la wilaya de Bejaia. [Thèse de doctorat]. Université A/MIRA ; 2006.p.1-99.
- ❖ **Valverde A, Coque TM, Sánchez-Moreno MP.** Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* during nonoutbreak situation in Spain. *Jclin Microbiol*.2004; 42, 4769-4775.
- ❖ **Xavier DE, Picão RC, Girardello R, Fehlberg L, Gales AC.** Efflux Pumps expression and its association with porin down-regulation and  $\beta$ -lactamase production among *Pseudomonas aeruginosa* causing bloodstream infections in Brazil. *BMC Microbiology*. 2010; 10, 1-7.
- ❖ **Yoneyama H et Katsumata R.** Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006 ; 70(5), 1060-1075.
- ❖ **Yoo JS, Byeon J, Yang J, Yoo JI, Chung GT, Lee YS.** High prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamases in *Enterobacteriaceae*

isolated from long-term care facilities in Korea. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.2010; 67, 261-265.

**ANNEXE I**

**Formulaire**

<b>Code :</b>		<b>Code labo :</b>						
<b>Nom et prénom :</b>								
<b>Date</b>		<b>Age :</b>			<b>Sexe : M/F</b>			
<b>Hospitalisation dans les 3 mois précédent : Oui/ Non</b>								
<b>Antibiothérapie : Oui/ Non</b>								
<b>Antibiotique administré</b>				<b>Date de début :</b>				
<b>Prélèvement :</b>								
<b>Souche identifiée :</b>								
<b>Antibiogramme réalisé au laboratoire d'analyses</b>								
<b>Antibiogramme complémentaire</b>								
<b>Présence ou Absence d'image de synergie</b>								
.....								
.....								
.....								
.....								
.....								
.....								



## ANNEXE II.

### Composition des milieux de culture (en g/L) (Guiraud, 2003)

#### Gélose Mac Conky

Peptone de caséine.....	17g
Peptone de viande.....	03g
Lactose.....	10g
Mélange de sels biliaires.....	1,5g
Chlorure de sodium.....	05g
Rouge neutre.....	0,03g
Cristal violet.....	0,001g

pH 7,4

#### VRBG (gélose biliée au cristal violet et au rouge neutre)

Peptone.....	07g
Extrait de levure.....	05g
Mélange de sels biliaires.....	1,5g
Glucose.....	10g
Chlorure de sodium.....	05g
Rouge neutre.....	0,03g
Cristal violet.....	0,002g

pH 7,4

#### Gélose Mueller Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	300g
Hydrolysate de caséine.....	17,5g
Amidon.....	1,5g
Agar.....	17g

pH 7,4

#### Milieu Urée-Indole

L-tryptophane.....	03g
Phosphate monopotassique.....	01g

Phosphate bipotassique.....	01g
Chlorure de sodium.....	05g
Urée .....	20g
Alcool à 95°.....	10ml
Rouge de phénol.....	0,025g
pH 7	

### Milieu Clark-Lubs

Peptone tryptique de viande.....	05g
Phosphate bipotassique.....	05g
Glucose.....	06g
pH 7	

### Mannitol- Mobilité

Peptone .....	20g
Nitrate de potassium.....	01g
Mannitol .....	02g
Rouge de phénole.....	0,04g
pH 8,1	

### Milieu de Citrate de Simmons

Citrate de sodium.....	02g
Chlorure de sodium.....	05g
Sulfate de magnésium.....	0,2g
Phosphate monoammoniaque.....	01g
Phosphate bipotassique.....	01g
Bleu de bromothymol.....	0,08g
Agar .....	15g
pH 7.0- 7.2	

### Gélose TSI

Extrait de viande de bœuf.....	03g
Extrait de levure.....	03g
Peptone tryptique.....	20g

Chlorure de sodium.....	05g
Citrate ferrique.....	0.3g
Thiosulfate de sodium.....	0,3g
Lactose.....	10g
Glucose.....	.01g
Saccharose.....	10g
Rouge de phénol.....	0,05g
Agar.....	12g

pH 7.4

### **Bouillon nitraté**

Bouillon nutritif.....	1L
Nitrate de potassium.....	.01g

### **Eau peptonée**

Peptone exemple d'indole.....	15g
Chlorure de sodium.....	.05g

pH 7,2

### ANNEXE III

**Tableau de lecture de la galerie API 20E.**

Tests	Composant actif	Réaction/enzyme	Résultats	
			-	+
ONPG	2-nitrophényl βDgalactopyranoside	β-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
<u>LDC</u>	L-lysine	Lysine décarboxylases	Jaune	Rouge/orangé
<u>ODC</u>	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
<u>[CIT]</u>	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pâle/ jaune	Bleu-vert/ bleu
H2S	Sodium thiosulfate	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir
<u>URE</u>	Urée	Urease	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/immédiat*	
			Jaune	Marron rougeâtre
IND	L-tryptophane	Production d'indole	Kovaacs /immédiat	
			Incolore Jaune	ou Rose
<u>[VP]</u>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP <sub>1</sub> +VP <sub>2</sub>	
			Incolore	Rose

Tests	Composant actif	Réaction/enzyme	Résultats	
			-	+
<u>GEL</u>	Gelatine de Kohn	gelatinase	Non diffusion	Diffusion de pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation ou oxydation du glucose	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation ou oxydation d'arabinose	Bleu/bleu vert	Jaune
MAN	Manitol	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositole	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	Rhaminose	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
NO <sub>2</sub> -NO <sub>3</sub>	Tube de GLU	Production de NO <sub>2</sub> et réduction au stade N <sub>2</sub>	NIT 1+NIT 2 /2-5mn	
			Jaune	Rouge
			Zn	
			Rouge	Jaune
OX	Sur papier filtre	Cytochrome oxydase	OX / 1-2min	
			Incolore	violet
MOB	microscope	mobilité	immobile	Mobile

**ANNEXE IV**  
**Profile numérique d'identification des souches.**

**ANNEXE V**  
**Diamètres des zones édités par le CFA-SFM, 2010.**

Antibiotique	Abréviation	Charge µg/ml	Ø critique (mm)	
			S	R
Amoxicilline	AMX	25	≥21	<16
Amoxicilline/ Clavulanate	AMC	20 /10	≥21	<16
Céfoxitine	FOX	30	≥22	<15
Céfotaxime	CTX	30	≥26	<23
Céftazidime	CAZ	30	≥26	<19
Céfépime	FEP	30	≥24	<17
Aztréonam	ATM	30	≥27	<21
Imipénème	IMP	10	≥24	<17
Acide nalidixique	NA	30	≥20	<15
Ciprofloxacine	CIP	5	≥25	<22
Gentamicine	GEN	15 (10UI)	≥18	<16
Amikacine	Ak	30	≥17	<15
Colestine	Col	50	≥15	<15

## ANNEXE VI

### Tests d'identification pour les souches retenues

<b>Code</b>	IND	URE	H2S	CITR	VP	RM	NIT	MAN	MOB	GAZ	GLU	LAC	IND44 <sup>0</sup>	<i>SOUCHE</i>
A01	N	N	N	P	P	N	P	P	P	P	P	P	N	<i>E.cloacae</i>
A31	N	N	N	P	P	N	P	P	P	P	P	P	N	<i>E.cloacae</i>
M19	P	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	<i>E.coli</i>
M04	P	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	<i>E.coli</i>
A41	P	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	<i>E.coli</i>
A24	P	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	<i>E.coli</i>
M05	P	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	<i>E.coli</i>
A05	P	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	<i>E.coli</i>
A10	P	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	<i>E.coli</i>
A45	P	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	<i>E.coli</i>
M16	P	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	<i>E.coli</i>
A14	P	P	P	N	N	P	P	P	P	P	P	N	N	<i>P.vulgaris</i>
M18	N	N	N	P	P	N	P	P	P	P	P	P	N	<i>E.aerogenes</i>
A33	N	N	N	P	P	N	P	P	P	P	P	P	N	<i>E.aerogenes</i>
A16	P	P	N	N	N	P	P	P	P	P	P	N	N	<i>M.morganii</i>
A13	N	P	N	P	P	N	P	P	N	P	P	P	N	<i>K.pneumoniae</i>
M13	P	N	N	P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	<i>C.divercus</i>
A15	N	P	P	N	N	P	P	N	P	N	P	N	N	<i>P. mirabilis</i>
A08	N	N	P	P	N	P	P	P	P	N	P	P		



Created with

 **nitro**<sup>PDF</sup> professional

download the free trial online at [nitropdf.com/professional](https://nitropdf.com/professional)

## ***Résumé***

Le but de notre étude déroulée au niveau de deux laboratoires d'analyses médicales Dr Ait Bachir et Dr Manseur de la ville d'Akbou, était la caractérisation phénotypique de mécanismes de résistance des entérobactéries isolées des prélèvements pathologiques aux  $\beta$ -lactamines. La majeure partie des souches sont isolées à partir des prélèvements urinaires avec un taux de **90.91%**. L'espèce la plus isolée durant cette étude est *E.coli* avec un taux de **63.64%**.

Au total, 66 souches d'entérobactéries sont collectées dont **15.15% (10/66)** sont résistantes aux C3G. L'étude de la sensibilité des souches a montré un taux de résistance élevé vis-à-vis de différents antibiotiques testés. **08 (80%)** souches sont productrices de BLSE (CTX-M), **02 (20%)** souches présentent une hyperproduction de céphalosporinase.

**Mots clés** : antibiotique, entérobactérie, mécanisme de résistance, BLSE.

## ***Abstract***

The aim of our study that took place at the level of the medical analyses laboratory of Dr Ait Bachir and Dr Manseur in the town of Akbou is the phenotypic characterizations of the resistance mechanism of enter bacterial isolated samples pathogenic to  $\beta$ -lactamine.the major part of the stubs are isolated from urinary samples with a rate of 90,91%. During this study, the most isolated species is *E.coli* with a rate of 63,64%.

On the whole, 66 stubs are collected among which 15.15% are resistant to C3G. The study of the stubs sensitivity has shown a decreased rate of resistance towards the different tested antibiotics. 80% of the stubs are BLSE (CTX-M), 20% of the stubs represent a hyperproduction of céphalosporinase.

**Key words**: antibiotics, enterobacteria, mechanism of resistance, BLSE.

# *Introduction*

# *Partie théorique*

# *Partie pratique*

*Matériel  
&  
Méthodes*

*Résultats  
&  
Discussion*

# *Conclusion*



# *Bibliographie*

# *Annexes*