

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Biologie
Option : Microbiologie en secteur biomédicale et vétérinaire



Réf:.....

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

MASTER

Thème

**Criblage de souches de bacilles à Gram négatif
résistantes à la colistine ou par production de
carbapénèmases au niveau des laboratoires
d'analyses médicales privés de la wilaya de Béjaia.**

Présenté par :

BOUAOUNI FATIMA

BELLIL MERIEM

Soutenu le : 16 Juin 2016

Devant le jury composé de :

M DJOUDI F.	MCB	Président
Mme GHAROUT A.	MCB	Encadreur
Mlle TAFOUKT R.	MAA	Examineur

Année universitaire : 2015 / 2016



Remerciements

*Avant tout, nous tenons à remercier celui qui nous a protégé, aidé et soutenu, jusqu'à pouvoir « mener la graine au fruit » nous nous inclinons pour dire :
« Dieu merci ».*

Nos remerciements les plus chaleureux et les plus vifs s'adressent d'abord à notre promotrice Mme GHAROUT A. pour son encadrement, ses conseils, son orientation et ses encouragements tout au long de ce travail et que sans elle, le présent travail ne serait jamais abouti.

Nous tenons à remercier vivement Monsieur DJOUDI F. d'avoir accepté de présider le jury ainsi que Mlle TAFUKT R. D'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous adressons aussi nous remerciment aux responsables des cinq laboratoires privés de la wilaya de Bejaïa (Dr. Ait Bachir, Idjaad, Lalaoui, Djama, Chena) pour leur aide précieuse dans la collection des prélèvements.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi à Mme RAHMANI D. la technicienne du laboratoire d'écologie microbienne pour son aide durant la période de stage pratique.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

- *A la mémoire de mes grands parents que j'aimerais pour toujours que dieu les accueillent dans son vaste paradis.*
- *A l'amour de ma vie ma chère mère, que dieu me la protège.*
- *A toi mon cher père, que dieu te protège.*
- *A mes anges adorés mes chères sœurs Malika, Asma, Souhila. Et leurs Maris*
- *A mon unique frère Omar et sa femme Hassiba*
- *A mes nièces et neveux. Chifa, Ilyes, Rahma, Abd Raouf, Amina, Hamza et Meriem*
- *A mes tentes et cousines*
- *A mon binôme Meriem ainsi que sa famille*
- *A mes amis Sihem, Mouna, Hanane, Samia, Narima, Amir, Salim, Hania, Sabrina, et à tous ceux qui sont chers.*
- *A toute la promotion MSBV 2015- 2016.*
- *A toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin et ont tout fait pour que je réussisse.*

Fatima

Dédicace

Merci à Dieu, à qui je dois tout, d'avoir guidé mes pas et de m'avoir donné la volonté pour accomplir ce travail.

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

➤ *A la mémoire de ma très chère mère ainsi que mon cher frère que j'aimerais pour toujours que dieu les accueille dans son vaste paradis.*

A mon très cher père Je suis fière et contente de réaliser une partie de ce que tu as tant espéré et attendu de moi. Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur, pour toutes les souffrances que tu as endurées. Je te dis infiniment merci.

A mon cher frère Tarik

A ma grand-mère Tassaadite et grand père Bakli. Que Dieu vous garde et vous accorde longue vie.

A mes oncles et leurs femmes, mes deux tantes Rbiha et Zahia, cousines et cousins. Merci pour votre gentillesse.

A mon très cher cousin Bilal

A toutes mes amies

A mes collègues du laboratoire de l'université : Mouna, Hanane, Hania, Sabrina, Amir.

A mes anciens camarades de sciences infirmières

Je vous souhaite un avenir souriant.

A toi Fatima et toutes ta famille.

A toutes la promotion de MSBV.

Meriem

Liste des abréviations

A.B : Acide boronique

ATB : Antibiotique

BLSE : β -lactamases à spectre élargie

C3G: Céphalosporine de troisième génération.

CA-SFM: Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

CIT : Citrate.

CL : Colistine.

CLOX : Cloxacilline.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines.

EDTA: Ethylène Diamine Tétracétique.

EPC : Entérobactéries productrices de carbapénémases.

ERT : Ertapenème.

EUCAST: European committee on antimicrobial susceptibility testing.

GES : Guyane à spectre étendu.

H₂S: Thiosulfate de sodium.

IMP : Imipénème.

KES : *Klebsiella-Entérobacter-Serratia*.

KPC : *Klebsiella pneumoniae* Carbapénémase.

MBL: Métallo- β -lactamase.

MC : Mac conkey.

MER : Méropenème.

MH: Mueller Hinton

NDM-1: New Delhi métallo- β -lactamases.

NMC : Carbapénémase non métallo-enzymatique

NR: Nitrate réductase.

OXA : Oxacillinasés.

Liste des abréviations

PH : Potentiel d'hydrogène.

PLP : Protéines liant les pénicillines.

RM: Rouge de Méthyle.

SET : Souk El Tnine.

VIM : Veroneintegron code métallo- β -lactamase.

VP: Voges-Proskauer

Listes des tableaux

Tableau I : Interprétation des résultats du Carba-NP test modifié.....	8
Tableau II : interprétation de test aux inhibiteurs.....	11
Tableau III : Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI.....	12
Tableau IV : Répartition des souches selon la nature du prélèvement.....	14
Tableau V : Fréquences des souches d'entérobactéries isolées.....	14
Tableau VI : répartition des souches selon le sexe des patients.....	15
Tableau VII : Répartition des souches selon l'âge.....	15
Tableau VIII : Résultats du carba-NP test modifié.....	16
Tableau IX : Résultat positif du test Hodge modifié	18
Tableau X : phénotype probables des souches résistantes aux carbapénèmes.....	19
Tableau XI Résultats de l'étude des CMI vis-à-vis de la Colistine.....	21

Listes des figures

Figure N° 1 : structure chimique des carbapénèmes.....	2
Figure N° 2 : Technique de Hodge test modifié.....	9
Figure N° 3: Synergie en disques carbapénèmes avec et sans inhibiteurs.....	10
Figure N° 4 : Répartition des souches d'entérobactéries selon l'âge des patients.....	15
Figure N° 5 : Image correspondante aux résultats du Carba-NP test modifié.....	16
Figure N° 6: Test de Hodge modifié positif pour la souche <i>E. coli</i> 1162.....	17

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction.....1

MATERIEL ET METHODES.

I. Objectif de l'étude6

II. Réisolement et identification des souches6

III. Détermination des phénotypes de résistances aux carbapénèmes.....6

III .1. Détection des carbapénémases par le carba-NP test modifié.....6

III .2. Détection des carbapénémases par le test de Hodge modifié8

III .3. Test des inhibiteurs des β -lactamases.....9

IV. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des entérobactéries résistantes à la colistine..... 11

RESULTATS

I. Souches bactériennes..... 14

II. Caractérisation des souches isolées..... 14

II.1. Répartition des souches isolées selon la nature du prélèvement 14

II.2. Répartition des souches par espèces..... 14

II-3-Répartition des souches selon le sexe du patient 15

II-4-Répartition des souches selon l'âge des patients 15

III- Analyse des phénotypes de résistances 16

III-1- Carba-NP test modifié 16

III-2- Teste de Hodge modifié 17

III.3. Tests des inhibiteurs de carbapénémases.....19

IV. Détermination des concentrations minimales inhibitrices vis-à-vis de la Colistine....21

DISCUSSION

Discussion générale.....22

Conclusion.....27

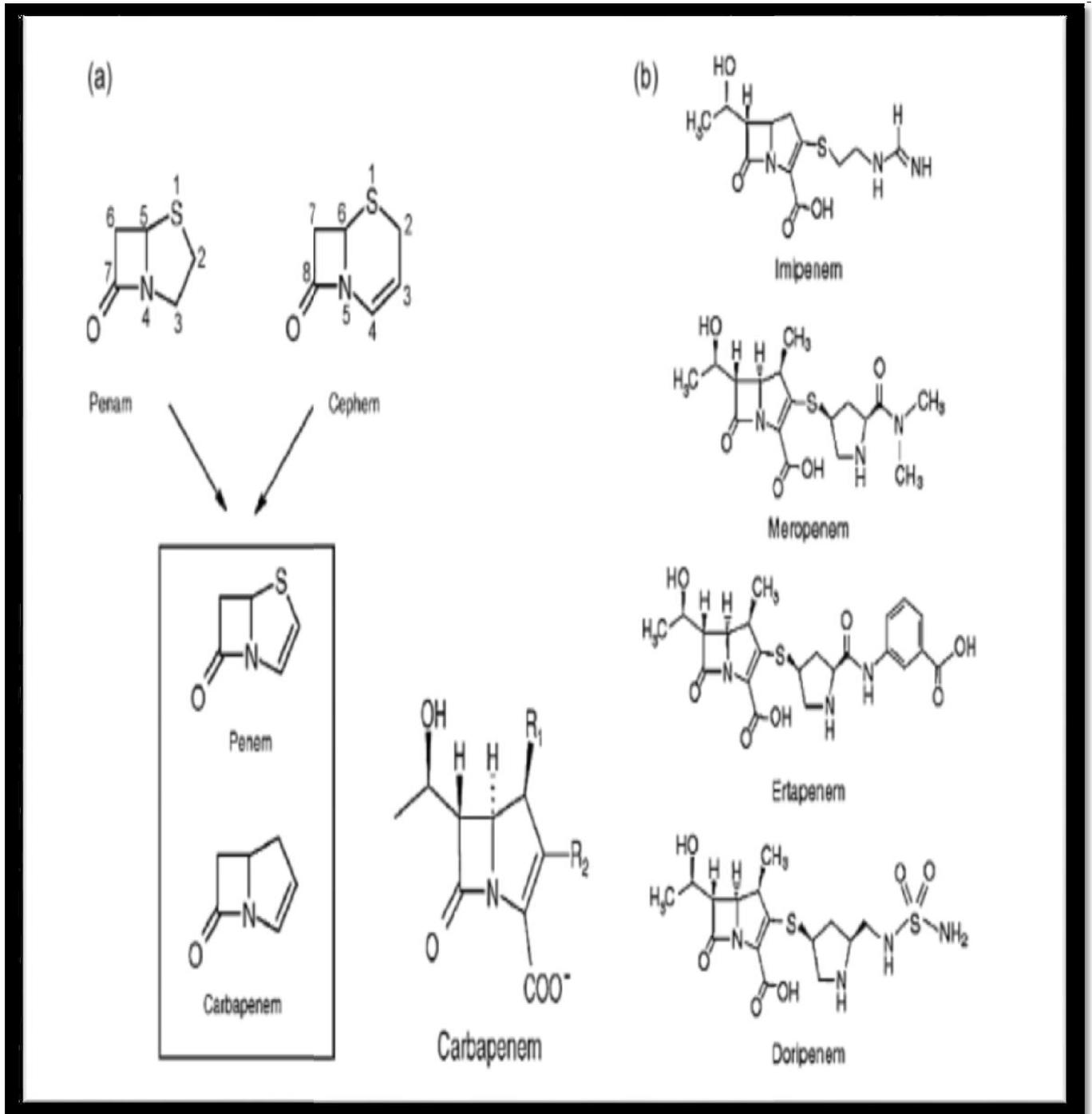
Liste des références bibliographiques

Annexes

1 Les Entérobactéries sont des bactéries fréquemment isolées dans les laboratoires de
2 bactériologie (**Boa et al., 2013**); et sont responsables de nombreuses infections
3 communautaires et nosocomiales notamment les infections urinaires, les gastro-entérites
4 sévères et respirations etc. ...(**Gueye ; 2007**).Particulièrement dans les pays en voie de
5 développement ; *E. coli* et *Klebsiella sp* étant les espèces les plus souvent isolées (**Boa et**
6 **al.,2013, Rangaiahagari et al.,2013**).

7 Les carbapénèmes sont considérés comme le traitement de choix des infections sévères
8 causées par les bactéries à Gram négatifs (**Kattan et al., 2008**). Ils sont des bêtalactamines qui
9 présentent un très large spectre d'activité et une grande stabilité vis-à-vis la plupart des
10 bêtalactamases. L'imipénème et méropénème ont été les deux premiers antibiotiques
11 disponibles en clinique. Une troisième molécule s'est ajoutée l'értapénème (**Zhanel et al.,**
12 **2005**).Parmi les nouvelles carbapénèmes ; le Doripénème qui garde une meilleure activité sur
13 les Bacilles à Gram négatifs (**Zahar et al.,2009**).

14 Les carbapénèmes sont caractérisés par un noyau pénème et dérivent de la
15 thiénamycine. Cette dernière est produite naturellement par *Streptomyces cattleya*. L'atome
16 de soufre du penta cycle pénème est remplacé par un atome de carbone pour donner un noyau
17 pénème (Figure N° 1). Cette introduction du carbone dans le noyau pentagonal, à l'origine
18 carbapénème, renforce le pouvoir de fixation aux protéines cibles (**Cavallo et al., 2004**).



1
2

Figure N° 1: structure chimique des carbapenèmes (Wolff et al., 2008).

3

4

1 Au cours des dernières décennies, la résistance des bactéries vis-à-vis des antibiotiques
2 a été croissante, notamment en raison de la pression de sélection exercée par l'utilisation
3 importante et parfois inadéquate des antibiotiques (**Curio *et al.*, 2014**).

4 Une émergence de la résistance aux carbapénèmes est actuellement observée, elle est
5 liée principalement à deux mécanismes (**Nordman *et al.*, 2012**). Le premier associe la
6 production à haut niveau d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou bien ;
7 d'une bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) à une diminution de la perméabilité
8 membranaire de la souche bactérienne ; cette combinaison affectant finalement de façon
9 importante la concentration minimale inhibitrice (CMI) et conduisant à la résistance. Le
10 second mécanisme est directement lié à l'expression de bêta-lactamases hydrolysant de
11 manière très significative les carbapénèmes .Ces enzymes étant de ce fait appelées
12 Carbapénèmases (**Poirel *et al.*, 2013**). La production d'enzymes et le mécanisme le plus
13 préoccupant, car il est très souvent identifié au sein de souches multirésistantes (**Nordman *et***
14 ***al.*, 2011**).

15 Les carbapénèmases décrites chez les entérobactéries constituent une famille très
16 composite définie sur la base d'un spectre enzymatique hydrolyse au moins un carbapénème
17 disponible (**Grall *et al.*, 2011**).Ce sont des β -lactamases ayant une activité hydrolytique vis-à-
18 vis des carbapénèmes. Ces enzymes appartiennent à trois classes selon la classification
19 d'Ambler (**Nordman *et al.*, 2010**). Les plus importantes cliniquement sont actuellement les
20 carbapénèmases de type KPC, NDM et OXA-48.

21 La classe A correspond principalement aux enzymes de type KPC, IMI et GES. Elles
22 ont la particularité de voir leur activité *in vitro* totalement ou partiellement inhibée par l'acide
23 boronique et l'acide clavulanique. Elles hydrolysent toutes les β -lactamines (**Boutet-Dubois**
24 ***et al.*, 2012**). Les β -lactamases de classe A ont été rapportées dans plusieurs souches
25 d'entérobactéries isolées de l'environnement (**Queenan *et al.*, 2007**). Il existe des
26 carbapénèmases de classe A chromosomiques (SME, NMC, et IMI) et d'autres de support
27 plasmidique (KPC, GES) (**Walther-Rasmussen *et al.*, 2007**).

28 La classe B correspond aux métallobêta-lactamases de type VIM, IMP et NDM. Ces
29 enzymes hydrolysent très fortement toutes les β -lactamines à l'exception de l'aztréonam. Leur

1 activité *in vitro* n'est pas affectée par les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique et
2 tazobactam). Ce sont des métallo-enzymes qui contiennent un ion zinc dans leur site actif
3 expliquant l'inhibition de leur activité par l'EDTA (chélateur des cations divalents) ou l'acide
4 dipicolinique (**Boutet-Dubois et al., 2012**).

5 La classe D correspond essentiellement aux enzymes de type oxacillinasés. OXA-48 depuis
6 sa première identification, différents variant ont été rapportées dont OXA-162, OXA-63,
7 OXA-181, OXA-204, OXA-232, OXA-244, OXA-245 et OXA-370 confèrent un profil de
8 résistance très similaire (**Nordmann et Poirel, 2014 ; Oteo et al., 2013 ; Dortet et al., 2015**).
9 Ces enzymes hydrolysent fortement les carbapénèmes mais pas ou peu les céphalosporines de
10 3ème génération. Elles sont résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases (**Boutet-Dubois et al.,**
11 **2012**). La première souche de *K.pneumoniae* productrice d'OXA-48 a été isolée en Turquie
12 en 2003 (**Poirel et al., 2004**). Depuis, les bactéries productrices d'oxacillinasés, notamment
13 OXA-48, ont très largement émergé dans tous les pays du pourtour méditerranéen et en
14 Afrique (**Nordman et al., 2011**).

15 En outre, l'émergence de bactéries Gram négatives multirésistantes et le manque de
16 nouveaux antibiotiques pour les combattre ont conduit à la relance de polymyxines ; ancienne
17 classe des antibiotiques cationiques polypeptidiques cycliques. Elles sont actives sur les
18 bactéries Gram négatives y compris les *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*
19 *spp*, *Enterobacter spp*. (**Falagas et al., 2005**).

20 Les polymyxines ont été découvertes en 1947. Bien que 5 molécules de polymyxine
21 soient connus de manière séquentielle et nommées polymyxine A à E, seules 2 sont
22 disponibles pour un usage thérapeutique: polymyxine B et la polymyxine E (colistine)
23 (**Hermsen et al., 2003**). L'antibiotique le plus utilisé est la colistine. Elle n'agit que sur les
24 bacilles à Gram négatif et elle reste, cependant, inactive sur les *Proteus*, *Providencia* et
25 *Serratia* (**Nauciel et Vildé, 2005**). La colistine est un polypeptide de la famille des
26 polymyxines du groupe E, produit par *Bacillus polymyxa* (**Frasca et al., 2008**).

27 Les polymyxines agissent sur la paroi cellulaire des bactéries à Gram négatif par
28 l'intermédiaire de trois mécanismes connus.

- 1 • Les polymyxines sont des molécules cationiques, qui perturbent électro-statiquement
2 les membranes de surface bactérienne par le déplacement des ions Ca^{2+} et Mg^{2+} qui
3 stabilisent les molécules du lipo-polysaccharide (LPS);
- 4 • Les polymyxines sont des agents tensio-actifs amphipathiques contenant à la fois des
5 groupements lipophiles et lipophobes. Ils pénètrent dans les membranes cellulaires et
6 interagissent avec des phospholipides, conduisant à des changements de perméabilité
7 qui perturbent rapidement les membranes et résultent la mort cellulaire;
- 8 • Les polymyxines peuvent également se lier au lipide A de l'endotoxine ou molécule
9 LPS et, dans des études sur les animaux, ils bloquent plusieurs effets biologiques des
10 endotoxines (**Chen et Kaye , 2009; Cohen, 2010**).

11 Malheureusement, la colistine n'échappe pas au développement de résistance. Il existe
12 plusieurs mécanismes suggérés de résistance à la colistine pour les bactéries à Gram négatif,
13 dont la plupart impliquent des changements dans la membrane externe (**Li et al., 2006**). Le
14 premier gène de résistance *mcr-1* a été détecté dans une souche d'*E.coli* isolé d'un patient
15 Danois septicémique, et de 5 autres *E.coli* isolées de la viande du poulet suite à une épidémie
16 propagée avec une fréquence très élevée en Chine (**Hasman et al., 2015**).

17 Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés aux entérobactéries résistantes
18 aux carbapénèmes et ou à la colistine, collectées au niveau des laboratoires d'analyses
19 médicales privés de la wilaya de Bejaïa. Dans cette étude, nous détaillerons les outils
20 méthodologiques utilisés avant d'exposer les résultats comme suit :

- 21 • Collectes des souches d'entérobactéries résistantes ou de sensibilité diminuée à
22 l'imipénème et ou a la colistine au niveau de 5 laboratoires d'analyses médicales
23 privés de la wilaya de Bejaïa (Dr Ait Bachir, Dr Idjaad, Dr Djama, Dr Chena et Dr
24 Lalaoui)
- 25 • Criblage de souches productrices de carbapénémases en utilisant le Carba-NP test
26 modifié.
- 27 • Réalisation du Test de Hodge modifié.
- 28 • Déduction des phénotypes de résistance aux carbapénèmes
- 29 • Réalisation des concentrations minimales inhibitrices vis-à-vis de la colistine.

1 **I. Objectif et présentation du travail**

2 Dans le but de cribler des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes et/ou à
3 la colistine ; nous avons réalisé un travail qui comporte deux parties durant une période allant
4 du **24/01/2016** au **12/05/2016**.

5 La première partie du travail repose sur la collecte des souches d'entérobactéries à partir
6 de cinq laboratoires médicaux privés de la wilaya de Bejaïa (**Dr Lalaoui, Dr Djama, Dr**
7 **Chena SET, (Dr Ait Bachir, Dr Idjaad) ; Akbou.**

8 La deuxième partie du travail s'est déroulée au niveau du laboratoire de microbiologie de
9 l'université de Bejaia. Le réisolement des souches a été effectué sur la gélose Mac Conkey
10 (MC) additionnée un disque de carbapénèmes (imipénème). En plus à une détermination des
11 phénotypes de résistances. Enfin, nous avons réalisé une étude des CMI (concentration
12 minimale inhibitrice) des souches suspectées d'être résistantes à la colistine.

13 **II. Réisolement et identifications des souches**

14 Le réisolement des souches bactériennes a été réalisé sur plusieurs milieux de cultures
15 sélectifs (gélose Mac Conkey, EMB, Hecktoen) (Annexe **IV**). Dans le but de cribler les
16 entérobactéries résistantes aux carbapénèmes un disque d'imipénème est testé en parallèle.
17 L'identification des souches isolées est obtenue en utilisant la gélose Chromagar (Bio
18 Mérieux) (Tableau N° **II**, Annexe **II**).

19

20 **III. Détection des phénotypes de résistance aux carbapénèmes**

21 **III.1. Carba-NP test modifié**

22 Ce test biochimique est basé sur les propriétés d'acidification générées par
23 l'hydrolyse enzymatique lorsque l'antibiotique carbapénème est clivé par chacune des
24 enzymes carbapénémases si l'une de ces enzymes est présente le milieu devient acide.
25 L'hydrolyse de l'antibiotique est détecté par un changement de l'indicateur de PH (rouge vers
26 jaune / orange). La couleur des tubes vire du rouge à l'orange ou au jaune pour les souches qui
27 produisent des carbapénémases, alors que les tubes correspondants aux isolats bactériens qui
28 ne produisent pas des carbapénémases restent rouge quelques soit leur niveau de sensibilité
29 aux carbapénèmes (**Bakour et al., 2015**).

1 **Les réactifs utilisés sont :**

- 2 - Imipénème (Poudre pour solution injectable IV) ;
- 3 - Tampon de lyse: CetylTrimethyl Ammonium Bromide (CTAB) ;
- 4 - Rouge de Phénol en poudre ;
- 5 - ZnSO₄, en poudre.

6 La solution A (solution contenant l'indicateur de pH) est préparée comme suit :

- 7 1- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5%.
- 8 2- Mélanger 2 ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6 ml d'eau distillée.
- 9 3- Ajouter au mélange 180 µl d'une solution de ZnSO₄ 10 mM.
- 10 4- Ajuster le pH à 7,5 avec une solution de NaOH (1N).

11 Pour détecter la production d'une carbapénémase, on procède comme suit :

- 12 1-Dans un tube eppendorf, mettre 200 µl de tampon de lyse (CTAB 0,02 %) ;
- 13 2- Suspendre une öse calibrée (10 µl) des colonies bactériennes dans le tampon de Lyse et
- 14 vortexer 1 à 2 min ;
- 15 3- Transférer la suspension bactérienne dans deux tubes eppendorf (A) et (B) (100 µl dans
- 16 chaque tube) ;
- 17 4- Ajouter 100 µl de la solution A dans le tube eppendorf (A) ;
- 18 5-Ajouter 100 µl de la solution A + Imipénème 6 mg/ml dans le tube eppendorf (B) ;
- 19 6-Vortexer 5 sec, puis incubé à 37°C pendant un maximum de 2h (**Bakour *et al.*, 2015**).

20 Ce test est réalisé en présence d'un témoin positif et négatif pour sa validation.

21 La lecture visuelle est effectuée dans chaque tube eppendorf et les résultats sont interprétés
22 selon le tableau ci-dessous.

23

24

1 **Tableau N° I** : Interprétation des résultats du Carba-NP test modifié (**Bakour et al.,**
2 **2015**).

Tube A	Tube B	Interprétation
Rouge	Rouge	Pas de production de Carbapénèmases
Rouge	Orange/Jaune	Production de carbapénèmases
Jaune	Jaune	Non interprétable

3

4 **III.2. Test de Hodge modifié**

5 Le test Hodge modifié (MHT) est un test de dépistage phénotypique pour la recherche de
6 la production de carbapénèmases. Ce test concerne les souches résistantes ou de sensibilité
7 diminuée à l'imipenème. Ce test consiste à déposer un disque d'imipenème (10 µg) au centre
8 d'une boîte de gélose Mac Conkey préalablementensemencée avec la souche de (*E.*
9 *coli*ATCC25922)(sensible à tous les antibiotiques). Ensuite la souche à tester, la souche
10 témoin positif (*Klebsiella pneumoniae* KPC3, collection du laboratoire écologie microbienne)
11 et la souche témoin négatif(*E.coli*ATCC25922) ont été ensemencées sur la gélose sous forme
12 de stries depuis le disque vers le bord de la gélose. Dix µl de la cloxacilline (75 mg/ml) ont
13 été ajoutés sur le disque d'IMP (figure N° 2). L'incubation a été réalisée à 37°C/24h. La
14 déformation de la zone d'inhibition et la formation d'un trèfle indique la production probable
15 d'une carbapénèmase (**Lee et al., 2010, CA- SFM, 2013**).

16

17

18

19

20

21

22

23

24

1 Cloxacilline est supérieur à celui obtenu avec le disque vierge imbibé avec Cloxacilline d'au
2 moins 5mm ont été considérées comme souches productrices d'une AmpC (CA-SFM, 2012).

4 • Acide boronique

5 Ce test a été réalisé en utilisant un disque d'ATB (d'imipénème ou d'értapénème) (10 μ g) et
6 un disque vierge imbibé avec 20 μ l de la solution d'acide phénylboronique (APB) 400 μ g. Les
7 diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques ont été mesurés et comparés après 24 h
8 d'incubation à 37 °C. Les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque ATB-APB
9 est supérieur à celui obtenu avec le disque vierge imbibé avec APB d'au moins 5mm ont été
10 considérées comme souches productrices Carbapénémase de classe A (Spyros *et al.*, 2010).

11 Les différents inhibiteurs testés sont schématisés dans la figure suivante.

12 • Test à la Témociline

13 Ce test permet de détecter les souches d'entérobactéries produisant une carbapénémase de
14 type OXA-48. Un disque de Témocilline (TEM, 30 μ g) a été déposé au centre d'une gélose
15 sélective préalablement ensemencée avec la souche à tester. La résistance à la Témocilline
16 possède une bonne valeur prédictive positive pour les de type OXA-48. Cependant certaines
17 espèces sont naturellement résistantes à cet antibiotique (ex *H. alvei*) (Huang *et al.*, 2014).
18 Les souches dont le diamètre d'inhibition est inférieur à 20mm sont considérées comme
19 productrice d'une OXA-48 (CA-SFM, 2016).

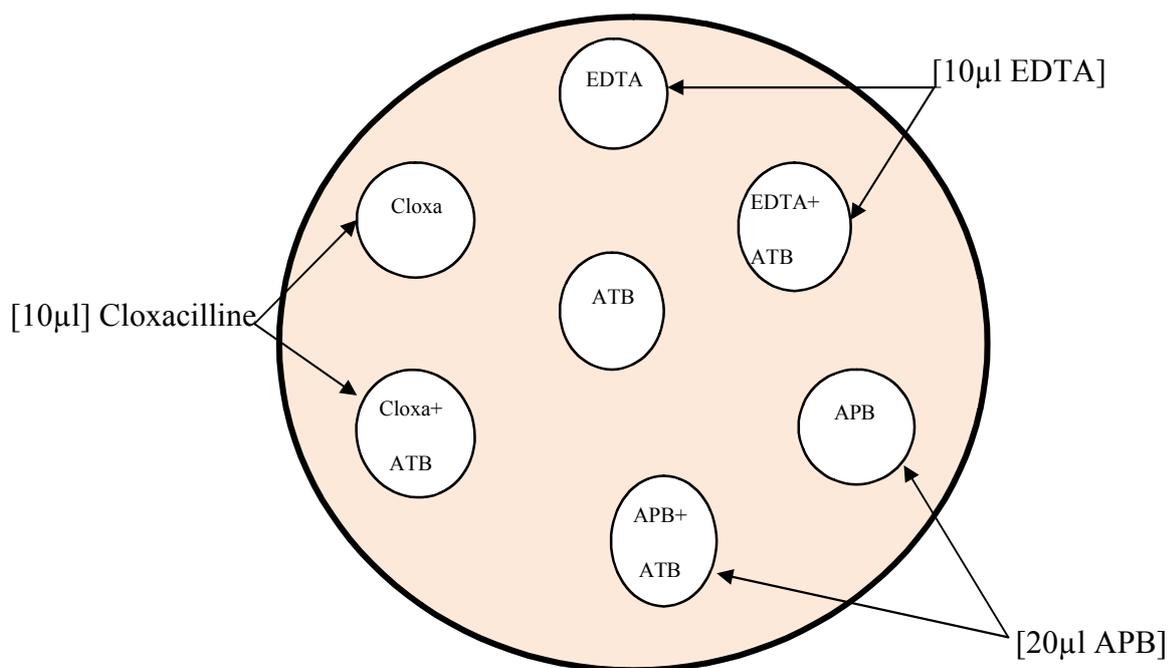


Figure N° 3: Synergie en disques carbapénèmes avec et sans inhibiteurs

1 La lecture des tests aux inhibiteurs est résumée dans le tableau suivant :

2 **Tableau N° II** : interprétation du test aux inhibiteurs

Mécanisme	Test de Hodge	Chélateur (EDTA)	Acide boronique	Cloxacilline
Carbapénèmase de classe A=KPC	+	-	+	-
Carbapénèmase de classe B =VIM, NDM-1	+	+	-	-
Carbapénèmase de classe D=OXA	+	-	-	-
Céphalosporinase(AmpC) + imperméabilité	?	-	+	+
Ni AmpC ni KPC ni MβL	-	-	-	-

3

4 **Légende** : APB : Acide phénylboronique ; Cloxa : Cloxacilline ; ATB : antibiotiques IMP

5

6 **IV. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)** 7 **des entérobactéries résistantes à la colistine**

8 La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible
9 concentration d'antibiotiques pour laquelle il n'y a pas de croissance visible. La détermination
10 de la (CMI) est effectuée par la méthode dilution en milieu solide sur la gélose de Mueller
11 Hinton.

12 ➤ **Préparation des boîtes**

13 Nous avons déposées 18 ml de gélose Mueller Hinton dans chaque boîte Pétri puis on a
14 additionné respectivement 2 ml de chacune des différentes concentrations de l'antibiotique
15 (colistine).

16 ➤ **Ensemencement**

Matériel et méthodes

1 Nous avons préparées les suspensions bactériennes puis 2 μ l de cette suspension est déposé
2 sur le milieu par spot en deux répétitions. Les boites ensemencées sont incubées à 37°C
3 pendant 24h. La souche *E. coli* sensible est utilisée comme témoin négatif.

4 **Tableau N° III** : Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI
5 (CASFM, 1995).

	Volume		Concentrations	
Solutions initiales mg /ml	Solution mère ml	Volume du diluant (ml)	Concentrations obtenues (mg/l)	Concentrations finales (mg/l)
320	4	4	160	16
320	2	6	80	8
320	1	7	40	4
320	0.5	15	20	2

6

1 **I. Souches Bactériennes**

2 Sur une période allant du **24/01/2016** au **12/05/2016**, nous avons collectées **78** souches
 3 d'entérobactéries de sensibilités diminué aux carbapenèmes et ou a la colistine isolées de
 4 différents prélèvements pathologiques (Tableau I Annexe I).

5 **II. Caractéristiques des souches isolées**

6 **II.1.Répartition des souches isolées selon la nature du Prélèvement**

7 La majeure partie des souches collectées **96,15%** sont d'origine urinaire (ECBU). La
 8 répartition des souches selon la nature du prélèvement est montrée dans le tableau ci-dessous :

9 **Tableau N° IV** : Répartition des souches selon la nature du prélèvement.

Type du prélèvement	ECBU	PUS	SELLES	Total
Nombre de souches	75	2	1	78
Pourcentage %	96,15	2,56	1,28	100

10 **Légende** : ECBU ; Examen cytobactériologique des urines.

11 **II.2. Répartition des souches par espèces**

12 La quasi-totalité de nos souches collectées sont représentées essentiellement par l'espèce
 13 *d'E.coli* avec un taux de **74.36%**, suivie par *K.pneumoniae* avec un taux de **21.97%** Les
 14 fréquences des souches d'entérobactéries sont montrées dans le tableau suivant :

15 **Tableau N° V** : Fréquences des souches d'entérobactéries isolées.

Espèces isolées	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>Proteus sp.</i>	Total
Nombre de souches	58	17	3	78
Pourcentage %	74,36	21,97	3,85	100

1 **II.3. Répartition des souches selon le sexe du patient**

2 D'après les résultats obtenus, les femmes présentent un taux d'infections plus élevé avec
 3 un pourcentage de **89,74%** comparés aux hommes qui présentent un taux de **10,25 %**. Cette
 4 répartition est montrée dans le tableau suivant :

5 **Tableau N° VI** : répartition des souches selon le sexe des patients

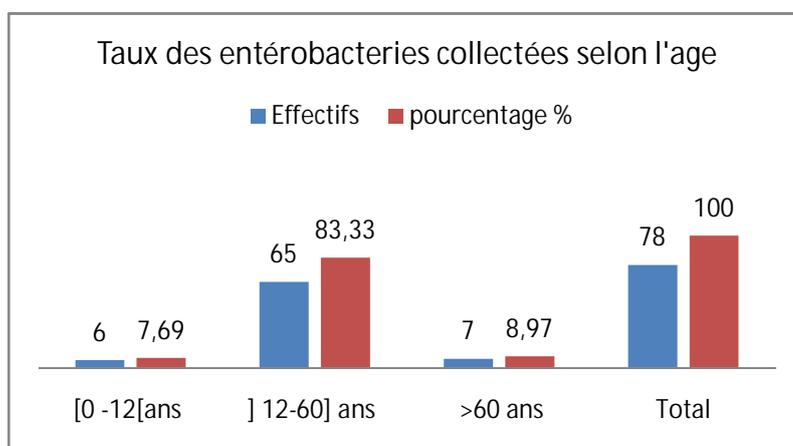
Sexe	Effectifs	Pourcentage %
Féminin	70	89,74
Masculin	8	10,25
Total	78	100

6 **II.4. Répartition des souches selon l'âge des patients**

7 La figure N° 4 montre que les taux d'infection obtenus sont variables chez les différentes
 8 catégories d'âge, la tranche d'âge allant de 12 ans à 60 ans est la plus touchée par rapport aux
 9 autres tranches avec un taux de **83,33%**. Le tableau ci-dessous indique la comparaison :

10 **Tableau N° VII** : Répartition des souches selon l'âge.

Tranche d'âge	Effectifs	Pourcentage %
[0 -12[ans	6	7,69
] 12-60] ans	65	83,33
>60 ans	7	8,97
Total	78	100



11
 12 **Figure N° 4** : Répartition des souches d'entérobactéries selon l'âge des patients.

1 **III. Analyse des phénotypes de résistances**

2 **III.1.Carba-NP test modifié**

3 Nous avons effectué ce test pour **24** souches de sensibilité diminuée aux carbapénèmes, et
 4 nous avons obtenu un résultat positif pour toutes les souches testées indiquant la production
 5 probable d'une carbapénémase (figure N° 5).



6
 7 **Figure N° 5 :** Image correspondante aux résultats du Carba-NP test modifié.

8 Les résultats du carba-NP Test sont représentés dans le tableau ci-dessous.

9 **Tableau N° VIII:** Résultats du carba-NP test modifié.

Code	Souche	Tube A	Tube B	Résultat
41 GN	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
75	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
462	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
757	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
899	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
1161	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
1162	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
1202	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
1276	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable

1287	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
1707	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
2281	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
4079	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
48516	<i>E. coli</i>	Rouge	Orange	Interprétable
1096	<i>K. pneumoniae</i>	Rouge	Orange	Interprétable
2218	<i>K. pneumoniae</i>	Rouge	Orange	Interprétable
405	<i>KESC</i>	Rouge	Orange	Interprétable
763	<i>KESC</i>	Rouge	Orange	Interprétable
1258	<i>KESC</i>	Rouge	Orange	Interprétable
1400	<i>KESC</i>	Rouge	Orange	Interprétable
1461	<i>K. pneumoniae</i>	Rouge	Orange	Interprétable
001	<i>Proteus sp</i>	Rouge	Orange	Interprétable
002	<i>Proteus sp</i>	Rouge	Orange	Interprétable
003	<i>Proteus sp</i>	Rouge	Orange	Interprétable

1

2

III.2. Test de Hodge modifié

3

Le test est positif lorsqu'on observe une distorsion de la zone d'inhibition à l'intersection entre une strie et la culture d'*E.coli* ATCC25922 figure N° 6. Nous avons obtenu un résultat positif chez 16 souches.

4

5



6

7

Figure N° 6: Test de Hodge modifié positif pour la souche *E. coli* 1162

1 Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

2 **Tableau N° IX** : Résultat positif du test Hodge modifié

Code	Souche	Date du Prélèvement	Type du Prélèvement	Sexe	Age	Laboratoire	ATB IMP10 μ g	Carba NP-test
							Ø En mm	
4079	<i>E.coli</i>	13/01/2016	ECBU	F	Adulte	Dr.Idjaad	20mm	+
48516	<i>E.coli</i>	02/01/2016	ECBU	F	Adulte	Dr. Ait Bachir	20mm	+
1837	<i>E.coli</i>	31/01/2016	ECBU	F	Adulte	Dr.Idjaad	23mm	+
899	<i>E.coli</i>	10/02/2016	ECBU	F	72 ans	Dr.Chena	23mm	+
462	<i>E.coli</i>	06/02/2016	ECBU	F	9ans	Dr.Chena	23mm	+
1287	<i>E.coli</i>	23/01/2016	ECBU	F	Adulte	Dr.Idjaad	23mm	+
1161	<i>E.coli</i>	19/01/2016	ECBU	F	Adulte	Dr.Idjaad	24mm	+
1162	<i>E.coli</i>	19/01/2016	ECBU	F	Adule	Dr.Idjaad	24mm	+
1400	<i>KESC</i>	24/01/2016	ECBU	F	Adulte	Dr.Idjaad	25mm	+
757	<i>E.coli</i>	09/02/2016	ECBU	F	10ans	Dr.Chena	25mm	+
1173	<i>KESC</i>	20/01/2016	ECBU	F	Adulte	Dr.Idjaad	25mm	+
1258	<i>KESC</i>	22/01/2016	ECBU	F	Adulte	Dr.Idjaad	20mm	+
2218	<i>K. pneumoniae</i>	27/01/2016	ECBU	H	84ans	Dr.Chena	21mm	+
1096	<i>K. pneumoniae</i>	11/02/201	ECBU	F	40ans	Dr.Chena	21mm	+
1461	<i>K. pneumoniae</i>	15/02/2016	ECBU	F	49ans	Dr.Chena	23mm	+
001	<i>Proteus sp</i>	Mai 2016	ECBU	F	Adulte	Dr. Ait Bachir	24mm	+

3

4

5

6

7

8

1 **III.3. Tests des inhibiteurs de carbapénémases**

2 Pour la détection des phénotypes de résistance aux carbapénèmes, des tests aux inhibiteurs
 3 de β -lactamases et un test à la témocilline ont été effectués sur un total de 14 souches. Les
 4 différents phénotypes de résistance probables de ces souches sont résumés dans le tableau
 5 XII.

6 **Remarque :**

7 Les résultats obtenus sont interpréter avec beaucoup de précautions car l'inoculum utilisé
 8 n'est pas standardisé.

9 **Tableau N° X : phénotype probables des souches résistantes aux carbapénèmes**

Code	ATB + (mm)	Tests aux inhibiteurs										Phénotype	Souche
		EDT A (mm)	EDT A+ ATB (mm)	≠	AB P	ABP + ATB (mm)	≠	Clox (mm)	Clox+ ATB (mm)	≠	Test tém ocill ine		
462	23	23	31	8	5	30	7	7	31	8	23	AmpC+ carbapénémase de classe B	<i>E. coli</i>
48516	20	22	30	8	5	30	10	5	24	4	20	carbapénémase de classe B+ de classe A	<i>E. coli</i>
1287	23	22	24	1	5	30	7	22	31	8	23	AmpC+ Impérméabilité	<i>E. coli</i>

RESULTATS

1258	20	20	30	10	5	30	10	5	28	8	20	AmpC+ carbapénèmase de classe B+ Carbapénèmase de classe D OXA-48-like	<i>KESC</i>
1096	21	20	30	9	5	31	10	12	28	7	21	AmpC+ carbapénèmase de classe B	<i>K. Pneumoniae</i>
1161	24	24	32	8	10	30	6	5	32	8	24	AmpC+ carbapénèmase de classe B	<i>E. coli</i>
1162	24	22	30	6	5	30	6	5	40	16	24	AmpC+ carbapénèmase de classe B	<i>E. coli</i>
4079	20	22	20	0	8	20	0	12	22	2	20	Carbapénèmase de classe D OXA-48-like	<i>E. coli</i>
899	23	22	30	7	5	30	7	22	24	1	23	carbapénèmase de classe B+ de classe A	<i>E. coli</i>
1837	23	20	24	1	14	23	0	16	20	0	23	Impèrmeabilitat	<i>E. coli</i>
757	25	23	30	5	5	30	5	11	26	1	25	carbapénèmase de classe B+ de classe A	<i>E. coli</i>
1461	23	22	32	9	5	30	7	14	24	1	23	carbapénèmase de classe B+ de classe A	<i>K. pneumoniae</i>
1400	25	22	30	5	8	31	6	18	35	10	25	AmpC+ carbapénèmase de classe B	<i>KESC</i>
2218	21	20	22	1	5	24	3	5	26	4	20	Carbapénèmase de classe D OXA-48-like	<i>K. pneumoniae</i>

1

2

3

4

1 **IV. Détermination des concentrations minimales inhibitrices vis-à-vis de la**
 2 **Colistine**

3 L'étude des CMI des souches vis-à-vis de la colistine a montré la présence de 5 souches
 4 d'*E.coli* ont 4 souches ayant une CMI > 16µg/ml et une souche avec une CMI de 4 µg/ml.
 5 Deux souches appartenant au groupe KESC ont des CMI de 4 µg/ml. Les résultats obtenus
 6 sont résumés dans le tableau suivant.

7 **Tableau XI** : Résultats de l'étude des CMI vis-à-vis de la Colistine.

Code	Souche	Concentrations				CMI de la souche	Date du prélèvement	Type du prélèvement	Laboratoire
		2 µg/ml	4 µg / ml	8 µg /ml	16 µg /ml				
003	<i>E.coli</i>	+	+	+	+	CMI > 16	25/01/2016	ECBU	Dr. Djama
320	<i>E.coli</i>	+	+	+	+	CMI > 16	25/01/2016	ECBU	Dr. Djama
1540	<i>E.coli</i>	+	+	+	+	CMI > 16	27/02/2016	ECBU	Dr. Idjaad
1287	<i>E.coli</i>	+	-	-	-	CMI=4	23/02/2016	ECBU	Dr. Idjaad
48516	<i>E.coli</i>	+	-	-	-	CMI=4	02/01/2016	ECBU	Dr. Ait Bachir
1258	KESC	+	-	-	-	CMI=4	22/02/2016	ECBU	Dr. Idjaad
1641	KESC	+	-	-	-	CMI=4	27/02/2016	ECBU	Dr. Idjaad

1 Le but de notre travail était de cribler des souches d'entérobactéries productrices de
2 carbapénèmases et des souches qui sont probablement résistantes vis-à-vis de la colistine, au
3 niveau de 5 laboratoires d'analyses médicales privés de Willaya de Bejaïa.

4 Sur un total de **78** souches collectées, **96,15%** proviennent des prélèvements urinaires.
5 Une étude descriptive sur une période de 6 mois (1 juin à décembre 2012) à Yaoundé
6 Camerounaise, faite sur un total de 143 souches d'*E.coli*, a montré que la quasi-totalité des
7 souches sont d'origine urinaire avec une prédominance des souches communautaires. Ces
8 souches étaient sensibles à l'imipénème (**Gonsu Kamga et al., 2014**). Par ailleurs, l'étude
9 réalisée en mars à avril 2012 sur des souches d'entérobactéries isolées au laboratoire du Dr.
10 Ait Bachir a montré que aucune souche résistante à l'IMP n'a été enregistrée (**(Nait Amara et**
11 **al., 2012)**).

12 La détection phénotypique des différentes carbapénèmases est basée sur leur capacité ou
13 non à hydrolyser des substrats particuliers ainsi que sur leurs profils d'inhibition en présence
14 de certains composés. Plusieurs tests phénotypiques sont disponibles commercialement, mais
15 leur efficacité peut être limitée par la fréquente association de plusieurs β -lactamases
16 différentes au sein d'une même souche bactérienne. Seule l'utilisation de tests moléculaires
17 permet de confirmer la prédiction des tests phénotypiques et d'identifier clairement le(s)
18 gène(s) impliqué(s) dans le mécanisme de résistance (**Philippon et al., 2006**).

19 L'analyse de l'antibiogramme est généralement la première étape dans la détection des
20 carbapénèmases. L'ertapénème est un indicateur très fiable dû à sa grande sensibilité, mais il
21 est peu spécifique. Il doit être couplé à une autre carbapénème (ex : méropénème) pour
22 augmenter la spécificité. De plus, la résistance à une carbapénème n'implique pas
23 automatiquement la présence d'une carbapénémase; des tests supplémentaires doivent être
24 entrepris pour identifier le mécanisme de résistance.

25 Hormis les espèces de la tribu des *Proteae*, notamment *Proteus mirabilis* et *Morganella*
26 *morganii*, qui sont naturellement de sensibilité diminuée à l'imipénème en raison de protéines
27 liant la pénicilline (PLP) peu affines, toutes les espèces d'entérobactéries sont naturellement
28 sensibles à tous les carbapénèmes (**CASFM-EUCAST, 2016**).

29 Nous avons sélectionné des souches résistantes ou de sensibilité réduite à l'imipénème. Ce
30 dernier est le seul carbapénème utilisé dans les laboratoires et parfois absent dans
31 l'antibiogramme. Ce carbapénème ne constitue pas la molécule de choix pour le criblage des
32 carbapénèmases, vue la sensibilité de certaines carbapénèmases à cette molécule.

1 Nous avons utilisé une technique biochimique Carba NP test modifié qui nous a
2 permis la détection rapide des carbapénèmases chez **24** souches d'entérobactéries. Les
3 avantages de ce protocole peuvent être résumés en 3 point essentiels :

4 - Détection des carbapénèmases chez différents types de bactéries (*Acinetobacter*,
5 *Pseudomonas* et Entérobactéries) en utilisant un seul protocole.

6 -Révélation très rapide des résultats en particulier dans le cas des espèces
7 d'Entérobactéries et de *Pseudomonas* productrices d'enzymes de type métallo- β -lactamases
8 (T< 1minutes).

9 - Détection de la production d'enzymes de type carbapénémase avant même
10 l'identification des souches bactériennes (**Bakour et al., 2015**).

11 Le test de Hodge modifié permet de détecter les carbapénèmases de classes A et D,
12 mais il peut engendrer des résultats faussement positifs chez les souches possédant une AmpC
13 surexprimée. D'autre part, les carbapénèmases de classe B peuvent ne pas être détectées par
14 ce test (**Rai et al., 2011**).Ce test peut parfois être faussement négatif, notamment avec les
15 souches productrices de carbapénèmases de type NDM-1. L'ajout de ZnSO₄ (100 μ g/ml) dans
16 le milieu permet d'augmenter très notablement la sensibilité du test dans ce cas. Un test
17 d'inhibition par des inhibiteurs spécifiques des β -lactamases de classe B (EDTA ou acide
18 dipicolinique) est également utile dans ce cas. Le test de Hodge peut parfois être faussement
19 positif pour les souches ayant un défaut d'accumulation des Carbapénèmes associé à la
20 production de céphalosporinases et/ou de BLSE. La réalisation du test de Hodge modifié en
21 ajoutant de la Cloxacilline sur le disque de carbapénème permet d'éliminer les faux positifs
22 liés à la production de céphalosporinase. Les inconvénients de cette méthode sont : sa durée
23 (24-48h), son manque de spécificité et de sensibilité. Dans cette étude, le test de Hodge était
24 positif chez **16** souches. Ce test est sensible pour la détection des carbapénèmases (surtout
25 KPC et OXA-48), mais ne fournit pas d'information sur le type de carbapénémase mis en
26 cause (**Girlich et al., 2011**).D'autres caractérisations peuvent être utilisées, comme
27 l'utilisation des inhibiteurs afin de différencier les carbapénèmases.

28 Les carbapénèmases de classe A sont habituellement inhibées par l'acide boronique et
29 l'acide clavulanique. Les enzymes de type KPC sont capables d'hydrolyser presque toutes les
30 β -lactamines : pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactames (aztréonam)
31 seule l'activité des céphamycines et de la céftazidime est peu modifiée. Parmi
32 céphalosporines de troisième génération, le céfotaxime est la molécule la plus hydrolysée, et
33 parmi les carbapénèmes, *KPC* possède l'affinité la plus élevée pour le méropénème, elles sont

1 faiblement inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam (**Cuzon et al., 2010**). Ces
2 enzymes ont été détectées à Porto Rico, la Colombie, la Grèce, Israël, et la Chine. Les
3 épidémies de producteurs KPC ont également été signalées dans de nombreux pays européens
4 et en Amérique du Sud (**Kontopoulou et al., 2010**). En Algérie, une seule étude réalisée par
5 Bakour *et al.*, 2015 rapportant la description d'une KPC3 chez un enfant de 6 mois avec
6 hydrocéphalie qui était admis au service de neurochirurgie du CHU de Sétif. Après analyse
7 d'un échantillon du liquide céphalorachidien, une souche de *K.pneumoniae* a été isolée et
8 identifiée.

9 Les carbapénèmases de classe B (VIM, IMP...) confèrent la résistance à diverses β -
10 lactamines telles que les pénicillines avec une sensibilité variable à la pipéracilline, aux C3G,
11 aux carbapénèmes ou encore aux céphamycines. Seul l'aztréonam semble peu ou pas inactivé
12 (**Barrial et Scotet, 2006**). Elles ont été également décrites dans le monde entier avec une forte
13 prévalence en Europe du Sud et en Asie. Leur hôte le plus habituel est *K. pneumoniae* avec
14 des niveaux d'expression de la résistance aux carbapénèmes variables. Initialement retrouvées
15 dans une souche d'*E. coli* en Grèce (VIM-1), ces métallo enzymes sont apparues rapidement
16 dans des isolats de *K. pneumoniae* et d'autres entérobactéries et sont devenues endémiques en
17 Grèce et dans d'autres pays d'Europe (**Heller et al., 2011**). NDM-1 est l'une des métallo- β -
18 lactamases les plus récemment isolées (**Hsueh, 2010**), une diffusion internationale
19 importante, identifiée dès 2010 au moins en Inde, au Pakistan et en Grande-Bretagne chez *K.*
20 *pneumoniae* et *E. coli* en milieu hospitalier et également en milieu communautaire
21 (**Nordmann et al., 2010**). En Algérie, ces enzymes sont isolées pour la première fois chez *A.*
22 *baumannii* par Boulanger *et al.* en 2012 (**Boulanger et al., 2012**) ; et Bakour *et al.* en 2014
23 (**Bakour et al., 2014**). Entre Janvier et Mai 2008, cinq souches d'entérobactéries résistantes à
24 l'IMP étaient isolées à partir de deux patients au service de réanimation de l'hôpital militaire
25 d'Alger. Ces souches étaient productrices de carbapénèmases de type métallo- β -lactamase
26 (VIM-19) (**Frederic et al., 2010**). **Yousfi et al., 2016** ont rapporté la présence de NDM-5
27 chez des animaux de compagnie.

28 Enfin, OXA-48, carbapénémase appartenant à la classe D, est l'une des
29 carbapénèmases les plus récemment décrites. Ces enzymes hydrolysent les amino-
30 pénicillines, les carboxypenicillines, et partiellement l'imipénème malgré une grande affinité
31 de l'enzyme pour ce substrat. Son activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique ou le
32 tazobactam. En absence d'autres mécanismes de résistance (autres β -lactamases de type
33 BLSE ou AmpC plasmidique, perte de porines, ou pompes à efflux), elle n'entraîne qu'une

1 légère diminution de la sensibilité aux carbapénèmes. De plus, l'hydrolyse des
2 céphalosporines est quasi-inexistante. Elle a émergé en Turquie à partir d'une souche de *K.*
3 *pneumoniae* (KP 11978) et diffusé dans d'autres pays du pourtour méditerranéen (**Canton et**
4 **al., 2012**, **Carrèr et al., 2008**). Leur distribution dans le monde entier comprend maintenant
5 des pays d'Europe (**Cuzon et al., 2008** ; **Potron et al., 2011**), du pourtour méditerrané
6 (**Potron et al., 2011**) et d'Afrique (Liban, Tunisie, Israël, Egypte) (**Matar et al., 2010** ;
7 **Lahlaoui et al., 2012** ; **Mocquet et al., 2011**). Des souches ont été aussi détectées en
8 Argentine (**Castanheira et al., 2011**). Depuis, des épidémies ont été décrites à différents
9 endroits du globe, incluant notamment des pays d'Afrique du Nord (**Benouda et al. 2010**), du
10 Moyen-Orient (**Dortet et al., 2012**). En Algérie, deux études rapportent la description
11 d'OXA-48 chez *K. pneumoniae*(S103/11) isolées en Octobre 2011 à partir de deux cultures de
12 sang appartenant à un patient masculin âgé de 18 mois qui a eu une leucémie, hospitalisé dans
13 le service de pédiatrie de l'hôpital militaire d'Alger (**Aggoune et al., 2014**) et une autre
14 souche d'*E. coli* isolée de pus chez une personne de 78 ans, admis en chirurgie générale au
15 niveau de l'hôpital militaire de Constantine (**Agabou et al., 2014**).Récemment, **Yousfi et al.,**
16 **2016** ont rapporté la présence d'enzyme OXA-48 chez des souches de *E. coli* isolées des
17 animaux de compagnie.

18 Les polymyxines ont été découvertes en 1947. Bien que 5 molécules de polymyxine
19 soient connus de manière séquentielle et nommées polymyxine A à E, seules 2 sont
20 disponibles pour un usage thérapeutique: polymyxine B et la polymyxine E (colistine)
21 (**Hermesen et al., 2003**). L'antibiotique le plus utilisé est la colistine. Elle n'agit que sur les
22 bacilles à Gram négatif et elle reste cependant inactive sur les *Proteus*, *Providencia* et
23 *Serratia* (**Nauciel et Vildé, 2005**).

24 L'émergence de bactéries gram-négatives multirésistantes et le manque de nouveaux
25 antibiotiques ont conduit à la renaissance de polymyxines (**Falagas et al., 2005**).

26 La colistine lie les lipopolysaccharides (LPS) grâce à ses charges positives. Le LPS
27 étant chargé négativement, il y a interaction et liaison de ces deux composés (**Falagas et al.**
28 **2010**). Cette interaction provoque un déplacement des cations divalents Mg^{2+} et Ca^{2+} . Ce
29 déplacement provoquera la formation de pores dans la membrane, entraînant ainsi le relargage
30 du contenu intracellulaire et résultera en la mort de la cellule.

31 Les mécanismes de résistance à la colistine varient selon le micro-organisme. Par
32 exemple, on retrouve des pompes à efflux chez *Yersinia pestis*, la production de capsule chez
33 *Klebsiella pneumoniae*, et la modification du LPS chez *Salmonella enterica* et *E.coli*

1 **(Bengoechea et Skurnik 2000, Campos et al., 2004, Falagas et al., 2010)**. Cette
2 modification du LPS est régulée par les systèmes à deux composantes PmrA/PmrB et
3 PhoP/PhoQ **(Kempf et al. 2013)**. Le système PhoP/PhoQ est associé à une diminution de la
4 concentration de Mg^{2+} dans l'environnement, en conséquence, il régule le système
5 PmrA/PmrB par PmrD. PmrD inhibe la déphosphorylation de PmrA activant ainsi la
6 transcription des gènes de l'opéron *arn* anciennement appelé l'opéron *pmr* **(Winfield et**
7 **Groisman, 2004, Falagas et al., 2010)**. La transcription de ces gènes entraîne l'addition d'un
8 groupement 4-amino-4-déoxy-L-arabinose (L-Ara4N) au niveau du lipide A du LPS. Ce
9 groupement vient neutraliser la charge du LPS réduisant ainsi son affinité pour la colistine
10 **(Kempf et al. 2013)**. PmrD est présent chez *E. coli*, mais ne semble pas impliqué dans la
11 liaison des 2 systèmes. PmrB est un récepteur transmembranaire avec une fonction histidine
12 kinase qui est activé par une forte concentration de l'ion Fe^{3+} **(Winfield et Groisman, 2004)**.
13 Ce récepteur phosphoryle PmrA, qui est le facteur de transcription, ce qui résulte en la
14 transcription des gènes de l'opéron *arn*. Chez d'autres entérobactéries, il a été rapporté qu'une
15 mutation dans les gènes de *pmrA* et *pmrB* pouvait entraîner l'activation continue de ce
16 système menant à la résistance à la colistine **(Falagas et al., 2010 ; Kempf et al., 2013)**. Une
17 étude très récente Janvier 2016 (MAROC), rapporte un taux de résistance à la colistine de
18 87.41% chez des souches *E. coli* isolées à partir de 200 poulets de chair collectés des fermes
19 du février au mai 2014 (**Hafed et al., 2016**). Récemment, **Liu et al., 2015** ont rapporté la
20 présence d'un gène plasmidique (*mcr-1*) transférable détecté dans des isolats d'*E. coli*
21 provenant d'animaux en Chine. **Hasman et al., 2015** a montré que le gène *mcr-1* est détecté
22 chez des isolats *E. coli*. La propagation de ce gène au Danemark est liée à des séquences types
23 ST131. Dans notre étude, 7 souches d'entérobactéries ayant des CMI_s ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ ont été
24 isolées des urines de patients communautaires.

25

1 Au cours de cette étude, des souches d'entérobactéries ont été collectées au niveau de 5
2 laboratoires d'analyses médicales privés situés dans la wilaya de Bejaia durant une période de
3 5 mois. Parmi les souches d'entérobactéries collectées, **74,36%**, sont des d'*E.coli*, suivi par
4 *K.pneumoniae* avec un taux de **21,97%**.

5 La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries, indépendamment du
6 mécanisme, pose des problèmes d'ordres clinique et thérapeutique, mais la résistance par
7 production de carbapénèmases est la plus inquiétante. Ces enzymes appartenant à un groupe
8 très hétérogène, sont codées par des gènes pouvant être situés sur des éléments génétiques
9 mobiles permettant ainsi une dissémination rapide. Leur passage encore plus important vers
10 le milieu communautaire amènerait à des impasses thérapeutiques. Plusieurs techniques
11 phénotypiques ont été proposées, mais aucune à ce jour n'a une spécificité ou une sensibilité
12 de 100%. La détection de telles souches s'avère délicate devant la multitude de phénotypes et
13 ne peut être uniquement basée sur le profil de résistance. Chez les entérobactéries,
14 l'ertapénème, semble être le meilleur marqueur de détection de ces enzymes.

15 Le carba-NP test était positif chez les **24** souches testées signifiant la production probable
16 de carbapénèmases.

17 Le test de Hodge modifié est positif pour **16** souches avec observation d'une image de
18 trèfle. Cependant, des faux négatifs peuvent être enregistrés chez les souches productrices de
19 métallo- β -lactamases et des faux positifs peuvent être dus à une hyperproduction de
20 céphalosporinase ou de BLSE, associée à une altération des porines.

21 Les tests d'inhibition reposent sur l'augmentation du diamètre d'inhibition autour d'un
22 disque combinant un carbapénème et un inhibiteur, ou encore sur une image de synergie entre
23 un disque de carbapénème et un disque contenant un inhibiteur. Certains inhibiteurs manquent
24 néanmoins de spécificité. Les résultats obtenus ont montré une diversité des phénotypes parmi
25 les souches étudiées.

26 En effet, il n'y a que la biologie moléculaire qui permette de nos jours de confirmer ou
27 d'infirmer les hypothèses posées par les méthodes phénotypiques. La biologie moléculaire
28 présente des avantages, mais elle a un certain nombre d'inconvénients non négligeables pour
29 les laboratoires, notamment en termes de coût et de disponibilité (tous les laboratoires ne
30 peuvent pas être équipés). De plus, l'émergence sans cesse de nouveaux mécanismes de
31 résistance nous prouve l'intérêt des tests phénotypiques. Il est conseillé de rechercher la

1 production d'une carbapénémase chez toutes les souches présentant même une légère
2 diminution de sensibilité aux carbapénèmes. En effet, une sensibilité intermédiaire, voire
3 même une sensibilité aux carbapénèmes ont été observées chez certaines souches productrices
4 de carbapénémases. Ce phénotype est particulièrement retrouvé pour les OXA-48 et OXA-
5 181 qui ne produisent pas de BLSE associée à l'oxacillines.

6 Les carbapénémases sont le plus souvent associées à des résistances à d'autres familles
7 d'antibiotiques contribuant à la multi-résistance aux antibiotiques de ces souches. Une fois
8 établie, cette multi-résistance ne régresse pas facilement. Le risque d'impasses thérapeutiques
9 est réel surtout qu'il n'existe pas de perspectives proches de mise sur le marché de nouveaux
10 antibiotiques anti Gram négatifs.

11 L'étude de la résistance vis-à-vis de la colistine a montré des CMI $\geq 4\mu\text{g/ml}$ chez 7
12 souches.

13 La résistance vis-à-vis de la colistine a connu une émergence très remarquable ces dernier
14 temps suite à l'utilisation intense de cet antibiotique, les résultats obtenus confirme qu'une
15 surveillance épidémiologique continue et une utilisation rationnelle de la colistine sont
16 nécessaires afin de limiter la diffusion de ces souches résistantes à la colistine et de préserver
17 l'efficacité de cet antibiotique.

18 Les résultats obtenus au cours de notre étude restent préliminaires et méritent d'être
19 exploités et complétés par :

- 20 ➤ L'étude d'un plus grand nombre de souches ;
- 21 ➤ L'étude de certains facteur de risque (tel que l'âge, le sexe du patient, antibiothérapie,
22 l'hospitalisation préalable et diabète, etc.) dans l'acquisition de souches résistantes ;
- 23 ➤ L'utilisation de la biologie moléculaire pour identifier les gènes qui codent pour les
24 carbapénémases.

A

Agabou A, Pantel A, Ouchenane Z, Lezzar N, Khemissi S, Satta D, Sotto A et Lavigne JP. (2014). First description of OXA-48-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone ST131 from patients hospitalized at a military hospital in Algeria. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*.**33**: 1641–1646.

Aggoune N, Tali-Maamar H, Assaous F, Benamrouche N, Naim M et Rahal K. (2014). Emergence of plasmid mediated carbapenemase OXA-48 in a *Klebsiella pneumoniae* strain in Algeria *Journal of Global Antimicrobial Resistance*.**2**:327–329.

Annexe . (2016). Lettre d'information du CA-SFM concernant la détection de la production de carbapénémases chez les entérobactéries. 56-57p.

B

Bakour S, Loucif L, Brunel JM, Touati A et Rolain JM. (2015). Rapid identification of Carbapenemas eproducing *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a Modified Carba NP test (Soumis).

Bakour S, Sahli F, Touati A et Rolain JM. (2015). Emergence of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* ST512 isolated from cerebrospinal fluid of a child in Algeria. *New Microbe and New Infection*. **3**: 34–36.

Bakour S, Touati A, Bachiri T, Sahli F, Tiouit D, Naim M, Azouaou M et Rolain JM. (2014). First report of 16S rRNA methylase ArmA-producing *Acinetobacter baumannii* and spread of metallo- β -lactamase NDM-1 in Algerian hospitals. *Journal Infection and Chemotherapy*.**20**:696-701.

Bao L, Peng R, Ren X, Ma R, Li J et Wang Y. (2013). Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics. *Pakistan Journal of Medical Sciences*.**29**: 135–139.

Barrial K et Scotet J. (2006). Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles Gram négatif perspectives d'évolution. *Des Bactériologie*. 38p.

Bartolini A, Frasson I, Cavallaro A, Richter NR et Palù G. (2014). Comparison of phenotypic methods for detection of non-sensitive *Enterobacteriaceae* carbapenem. *Gut Pathog*. **6**:13-15.

Bengoechea, J. A. and M. Skurnik (2000). "Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in *Yersinia*." *Mol Microbiol* 37(1): 67-80.

Benouda A, Touzani O, Khairallah MT, Araj GFetMatar GM.(2010).First detection of oxacillinase-mediated resistance to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* from Morocco.*Annals of Tropical Medicine and Parasitology*.**104**: 327-330.

Boulangier A, Naas T, Fortineau N, Figueiredo S etNordmann P. (2012).NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* from Algeria.*Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.**56**: 2214-2215.

Boutet-Dubois A , Pantel A, Sotto A, Lavigne JP.(2012).Carbapenemase-producing *enterobacteriaceae* : 20(3) :135-140, 1249-0075.FRN

C

(CASFM, 1995). (CA-SFM, 2012). (CA- SFM, 2013). (CASFM-EUCAST, 2016).

Campos, M. A., M. A. Vargas, V. Regueiro, C. M. Llompert, S. Alberti and J. A. Bengoechea (2004). "Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides." *Infect Immun* 72(12): 7107-7114.

Canton R, Akova M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Miriagou V, Naas T, Rossolini GM, Samuelsen O, Seifert H, Woodford N et Nordmann P. (2012).Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe.*Clinical Microbiology and Infection*.**18**: 413-431.

Carrër A, Fortineau N et Nordmann P. (2010). Use of ChromID Extended-Spectrum β -Lactamase Medium for Detecting Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*.**48**: 1913–1914.

Carrër A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, BadurS et Nordmann P. (2008).Spread of OXA-48-Positive Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Istanbul, Turkey. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **52**:2950-2954.

Carrër A, Poirel L, Yilmaz M, Akan OA, Feriha C, Cuzon G, Matar G, Hondrelick PetNordmann P.(2010). Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **54**: 1369-73.

Castanheira AM, Deshpande LM, Mathai D, Bell JM, Jones RN et Mendes RE.(2011).Early Dissemination of NDM-1 and OXA-181-Producing *Enterobacteriaceae* in Indian Hospitals: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **55** : 1274–1278.

Cavallo JD, Fabre R, Jehl F, Rapp C et carrabé E. (2004). Bêta-lactamantibiotics. EMC-Maladies Infectieuses.**1** : 129–202.

Chen L.F. et Kaye D. 2009. Current Use for Old Antibacterial Agents: Polymyxins, Rifamycins, and Aminoglycosides. *Antibacterial Therapy and Newer Agents. Infectious Disease Clinics of North America. Antibacterial Therapy and Newer Agents*; 23(4): 1053-1075.

Cohen R. 2010. Colimycine: un vieil antibiotique qu'il faut apprendre à connaître. *Archives de Pédiatrie*;17:S171-S176.

Cuzon G, Naas T, Bogaerts P, Glupczynski Y et Nordmann P. (2008).Plasmid-encoded carbapenem-hydrolyzing β -Lactamase OXA-48 in an Imipenem susceptible *K. pneumonia* strain from Belgium. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.**52**:3463-3464.

Cuzon G, Naas T et Nordmann P. (2010).KPC carbapenemases: What issue in clinical microbiology. *Pathologie Biologie*. **58** :39-45.

D

Denis F, Ploy MC, Martin C, Bengen et Quenten R. (2007). *Bactériologie médicale : Techniques usuelles*. Edition : Elsevier Masson ; 70p.

Dortet L, Oueslati S, Jeannot K, Tandé D, Naas T, Nordmann P. Genetic and biochemical characterization of OXA-

405, an OXA-48-type extended-spectrum β -lactamase without significant carbapenemase activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; **59**:3823-8.

Dortet L, Poirel L, Al Yaqoubi F et Nordmann P. (2012). NDM-1, OXA-48 and OXA-181 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Sultanate of Oman. *Clinical Microbiology and Infection.***18**: 144-148.

Dortet L, Poirel L, Errera C et Nordmann P. (2014). Carb NP Test for Rapid Detection of Carbapenemase-Producing *Acinetobacter* spp. *Journal of Clinical Microbiology.* **52**:2359-2364.

F

Falagas, M. E., P. I. Rafailidis and D. K. Matthaiou (2010). "Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options." *Drug Resist Updat* 13(4-5): 132-138.

Falagas, M. E. and S. K. Kasiakou (2005). "Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections." *Clin Infect Dis* 40(9): 1333-1341.

Frasca D., Dahyot-Fizelier C. et Mimos O. 2008. La colistine en réanimation. *Réanimation*; 17: 251-258.

Frederic R, Aggoune-Khinache N, Delmas J, Malek Net Bonnet R. (2010). Novel VIM Metallo- β -Lactamase Variant from Clinical Isolates of *Enterobacteriaceae* from Algeria. *Antimicrobial agents and chemotherapy.***54**:466–470.

G

Ganta SR, Perumal S, Pagadala SR, Samuelsen O, Spencer J, Pratt RF et Buynak JD.(2009). Approaches to the simultaneous inactivation of metalloand serine-beta-lactamases. *Bioorganic and Medical Chemistry Letters.***19**:1618–22.

Ghita Y. (2013). Les entérobactéries productrices de carbapénèmes: Etude prospective. These de Doctora de biologie médicale. Université SIDI MOHAMMED BEN ABDALLAH, Faculté de médecine et de pharmacie. 49p.

Girlich D, Poirel L et Nordmann P. (2011). Value of the Modified Hodge Test for Detection of Emerging Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. Journal of Clinical Microbiology. **50**:477–479.

Gonsu Kamga H, Nzengang R, Toukam M, Sando Z , Koulla Shiro S.(2014)

Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaoundé (Cameroun): African Journal of Pathology and Microbiology , Article I (3) 4 .10.4303-235891.

Grall N, Andremont A et Armand-Lefèvre L. (2011).Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ?. Journal des Anti-infectieux. **16** : 16.

Gueye O. (2007). Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif. Thèse doctorat. Université cheikh Anta Diop de Daka. 120p.

H

Hafed Z, Benguedour R, Aboussaleh Y, zeghari L, Aouane M, Berrid N, Abouchouaib N, Sbaibi R. Profil d'antibiorésistance d'*Escherichia coli* d'origine aviaire : cas de poulet de chair dans la région de Grande -Casablanca –Maroc. Am. J. in nov. res. appl. sci. 2016 ; 2(2):50-54.

Hasman H, Hammerum A , Hansen F, Hendriksen R, Olesen B, Agersø Y, Zankari E, Lee kitcharoenphon P, Stegger M, Kaas R, Cavaco L, Hansen D, Aarestrup F, Skov R. Detection of mcr-1 encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. Euro Surveill. 2015;20 (49) .

Heller I, Grif KetOrth D. (2011). Emergence of VIM-1-carbapenemase-producing *E. cloacae* isolates in the Tyrol, Austria. London, 21nd ECCMID, Poster 1344.

Hermesen E.D., Sullivan C.J. et Rotschafer J.C. 2003. Polymyxins: pharmacology, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical applications. Infect Dis Clin North Am;17(3): 545-62.

Hsueh PR.(2010). New Delhi Metallo- β -lactamase-1 (NDM-1): An Emerging Threat Among *Enterobacteriaceae*. Journal of the Formosan Medical Association.**109**: 685–687.

Huang T D, Poirel L, Bogaerts P, Berhin C, Nordmann P et Glupczynski Y. (2014). Temocillin and piperacillin/tazobactam resistance by disc diffusion as antimicrobial surrogate markers for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in geographical areas with a high prevalence of OXA-48 producers. J Antimicrob Chemother. **69**: 445–450.

K

Kattan JN, Villegas MV, Quinn JP. New developments in carbapenems. Clin Microbiol Infect. 2008; **14**:1102-11.

Kempf, I., M. A. Fleury, D. Drider, M. Bruneau, P. Sanders, C. Chauvin, J. Y. Madec and E. Jouy (2013). "What do we know about resistance to colistin in *Enterobacteriaceae* in avian and pig production in Europe?" Int J Antimicrob Agents 42(5): 379-383.

Kontopoulou K, Protonotariou E, Vasilakos K, Kriti M, Koteli A, Antoniadou E et Sofianou D. (2010). Hospital outbreak caused by *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-2 β -lactamase resistant to colistin. The Journal of Hospital Infection.**76**:70-3.

Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, Chaudhary U, Doumith M, Giske CG, Irfan S, Krishnan P, Kumar AV, Maharjan S, Mushtaq S, Noorie T, Paterson DL, Pearson A, Perry C, Pike R, Rao B, Ray U, Sarma JB, Sharma M, Sheridan E, Thirunarayan MA, Turton J, Upadhyay S, Warner M, Welfare W, Livermore DM, et Woodford N.(2010). Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. The Lancet Infectious Diseases.**10**: 597-602.

L

Lahlaoui H, Poirel L, Barguelli F, Moussa MB et Nordmann P. (2012). Carbapenem hydrolyzing class D β -Lactamase OXA-48 in *Klebsiella pneumoniae* isolates from Tunisia. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. **31**: 937-939.

Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, Docquier JD et Chong Y. (2010). Improved performance of the modified Hodge test with Mac Conkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *Journal of Microbiological Methods*. **83**: 149–152.

Li J., Nation R. L., Turnidge J. D., Milne R. W., Coulthard K., Rayner C. R. et Paterson D. L. 2006. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis*; 6: 589-601.

Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R et Spencer J. (2015). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. **10**: 1016- 1473.

M

Martinez-Martinez L. (2008). Extended-spectrum beta-lactamases and the permeability barrier. *Clinical Microbiology and Infection*. **14**: 82-9.

Matar GM, Dandache I, Carrer A, Khairallah MT, Nordmann P, Sabra A et Araj GF.(2010). Spread of OXA-48-mediated resistance to carbapenems in Lebanese *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* that produce extended spectrum β -lactamase. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. **104**: 271-274.

Mataseje LF, Boyd DA, Hoang L, Imperial M, Lefebvre B, Miller M, Poutanen SM, Roscoe D, Willey BM et Mulvey MR. (2013). Carbapenem-hydrolyzing oxacillinase-48 and oxacillinase-181 in Canada, 2011. *Emerging Infectious Diseases*. **19**: 157-160.

Moquet O, Bouchiat C, Kinana A, Seck A, Arouna O, Bercion R, Breurec S et Garin B. (2011). Class D OXA-48 Carbapenemase in Multidrug-Resistant *Enterobacteriaceae*, Senegal. *Emerging Infectious Diseases*. **17**: 143-144.

N

Nait Amara L, Amir, Touati A, Mezhoud H et Belhadi K (2012). Caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées des prélèvements pathologiques en médecine de ville. Mémoire de fin de cycle Ingénieur en microbiologie. Université A/MIRA de Béjaia, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Corte. 25p.

Nauciel C. et Vildé J.-L. 2005. Bactériologie médicale, connaissance et pratique. 2ème édition Masson. p

Nordmann P. (2010). Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. Médecine/Sciences. **26** : 950-959.

Nordmann P et Carrër A.(2010). Les carbapénémases des entérobactéries. Archives de Pédiatrie. **17**:154-162.

Nordmann P, Cuzon G et Naas T.(2009).The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria.The Lancet Infectious Diseases.**9**:228-36.

Nordmann P, Dortet L et Poirel L. (2012). Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm!.Trends in Molecular Medicine.**18**:263–272.

Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N et Miriagou V. (2012). Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Clinical Microbiology and Infection. **18**: 432 8.

Nordmann P, Naas T et Poirel L.(2011). Global spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Emerging Infectious Diseases. **17**: 1791-8.

Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae* worldwide. Clin Microbiol Infect. 2014; **20**:821-30.

Nordmann P, Poirel L, Walsh TR et Livermore DM.(2011).The emerging NDM carbapénémases. *Trends in Microbiology*.**19**: 588-95.

O

Oteo J, Hernández JM, Espasa M, Fleites A, Sáez D, Bautista V, Pérez-Vázquez M, Fernández-García, Delgado-Iribarren A, Sánchez-Romero I, García-Picazo L, Miguel MD, Solís S, Aznar E, Trujillo G, Mediavilla C, Fontanals D, Rojo S, Vindel A, Campos J. Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and OXA-245 in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2013; **68**:317-21.

P

Philippon A et Arlet G.(2006). [Beta-lactamases of Gram negative bacteria: neverending clockwork!]. *Annales de Biologie Clinique(Paris)*.**64**:37-51.

Poirel L, Abdelaziz MO, Bernabeu S et Nordmann P. (2013). Occurrence of OXA-48 and VIM-1 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Egypt. *International Journal Antimicrobial Agents*. **41**:90-91.

Poirel L, Héritier C, Tolün V et Nordmann P. (2004). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.**48**: 15-22.

Poirel L, Pitout JD et Nordmann P. (2007). Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiology*.**2**:501-12.

Potron A, Kalpoe J et Nordmann P. (2011). European dissemination of a single OXA-48-producing *K. pneumoniae* clone. *Clinical Microbiology and Infection*.**17**: 24-26.

Potron A, Poirel L, Rondinaud E et Nordmann P. (2013). Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* over a 11-year period, 2001 to 2011. *Euro Surveill*.**18**: 1-14.

Q

Queenan AM et Bush K.(2007). Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews.***20**: 440-58.

R

Rai S, Manchanda V, Singh NP et Kaur IR. (2011). Zinc-dependent carbapenemases in clinical isolates of family Enterobacteriaceae. *Indian Journal of Medical Microbiology.***29**:275-279.

Rangaiahagari A, Uwizeyimana JP, Nyirabanzi J, Ngoga E et Wane J. (2013). Antibiotic sensitivity patterns of Enterobacteriaceae isolated at king Faisal hospital, Kigali - a three years study. *Rwanda Medical Journal.***70**: 11-14.

S

Spyros P, Aggelik P et Athanassions T. (2010).Inhibitor-based methods for the detection of KPC carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* in clinical practice by using boronic acid compound. *J Antimicrob chemother.* **65** : 1319-1321.

W

Walther-Rasmussen J et Hoiby N. (2007). Class A carbapenemases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **60**:470-82.

Winfield, M. D. and E. A. Groisman (2004). "Phenotypic differences between *Salmonella* and *Escherichia coli* resulting from the disparate regulation of homologous genes." *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(49): 17162-17167.

Wolff M, Joly-Guillou ML et Pajot O. (2008). Le point sur les carbapénèmes. *Réanimation.* **17**: 242-250.

Y

Yousfi M, Touati A, Mairi A, Brasme L, Gharout-Sait A, Guillard T, and De Champs C (2016). Emergence of Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Companion Animals in Algeria, microbial drug resistance. *Veterinary microbiology*. 10.1089-0196

Z

Zahar JR, Bille E, Schnell D, et al. [Extension of beta-lactamases producing bacteworldwide concern]. *Med Sci (Paris)* 2009; 25: 939-44.

Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ, Noreddin AM, Karlowsky JA. (2007). Comparative review of the carbapenems. *Drugs*. **67**:1027–1052.

Zhao WH, Chen G, Ito R et Hu ZQ . (2009). Relevance of resistance levels to carbapenems and integron-borne blaIMP-1, blaIMP-7, bla IMP- 10 and blaVIM-2 in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Medical Microbiology*.**58**:1

Tableau I : Total des souches collectées au cours de cette étude.

Code	<i>Espèce</i>	Date du prélèvement	Type du prélèvement	Sexe	Age	Laboratoire
809	<i>E.coli</i>	04/01/2016	Selles	Femme	Adulte	Dr.Lalaoui
4079	<i>E.coli</i>	13/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Lalaoui
1778	<i>E.coli</i>	24/01/2016	Ecbu	Femme	58 ans	Dr.Chena
1776	<i>E.coli</i>	24/01/2016	Ecbu	Femme	27 ans	Dr.Chena
1400	<i>KESC</i>	24/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1108	<i>E.coli</i>	19/01/2016	Pus	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1082	<i>E.coli</i>	20/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1162	<i>E.coli</i>	19/01/2016	Pus	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1161	<i>E.coli</i>	19/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1258	<i>KESC</i>	22/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1287	<i>E.coli</i>	23/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1641	<i>KESC</i>	27/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1540	<i>E.coli</i>	27/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1707	<i>E.coli</i>	28/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1679	<i>E.coli</i>	30/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad

Annexe I

1808	<i>E.coli</i>	30/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1837	<i>E.coli</i>	31/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
320//	<i>E.coli</i>	03/02/2016	Ecbu	Femme	26ans	Dr.Chena
75	<i>E.coli</i>	01/02/2016	Ecbu	Femme	25ans	Dr.Chena
41	<i>K.pneumoniae</i>	01/02/2016	Ecbu	Femme	29ans	Dr.Chena
405	<i>K.pneumoniae</i>	04/02/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Chena
2481	<i>E.coli</i>	30/01/2016	Ecbu	Femme	39ans	Dr.Chena
1145	<i>K.pneumoniae</i>	13/02/2016	Ecbu	Garçon	3ans	Dr.Chena
2467	<i>E.coli</i>	30/01/2016	Ecbu	Femme	52ans	Dr.Chena
2423	<i>E.coli</i>	29/01/2016	Ecbu	Femme	80ans	Dr.Chena
2218	<i>K.pneumoniae</i>	27/01/2016	sonde	Homme	84ans	Dr.Chena
462	<i>E.coli</i>	06/02/2016	Ecbu	Fille	9ans	Dr.Chena
484	<i>E.coli</i>	06/02/2016	Ecbu	Femme	26ans	Dr.Chena
668	<i>K.pneumoniae</i>	08/02/2016	Ecbu	Femme	28ans	Dr.Chena
757	<i>E.coli</i>	09/02/2016	Ecbu	Fille	10ans	Dr.Chena
763	<i>K.pneumoniae</i>	09/02/2016	Ecbu	Fille	5ans	Dr.Chena
899	<i>E.coli</i>	10/02/2016	Ecbu	Femme	72ans	Dr.Chena
1096	<i>K.pneumoniae</i>	11/02/2016	Ecbu	Femme	40ans	Dr.Chena
1101	<i>E.coli</i>	11/02/2016	Ecbu	Femme	52 ans	Dr.Chena
1276	<i>E.coli</i>	13/02/2016	Ecbu	Femme	35ans	Dr.Idjaad

Annexe I

1461	<i>K.pneumoniae</i>	15/02/2016	Ecbu	Femme	49ans	Dr.Idjaad
1553	<i>E.coli</i>	15/02/2016	Ecbu	Femme	49ans	Dr.Idjaad
1202	<i>E.coli</i>	13/02/2016	Ecbu	Femme	21ans	Dr.Idjaad
48516	<i>E.coli</i>	02/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr. Ait Bachir
320	<i>E.coli</i>	25/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Djama
003	<i>E.coli</i>	25/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Djama
639	<i>E.coli</i>	28/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr. Djama
A,B	/	février	Ecbu	Femme	Adulte	Dr .Ait Bachir
1827	<i>E.coli</i>	17/02/2016	Ecbu	Fille	3ans	Dr.Chena
1927	<i>E.coli</i>	18/02/2016	Ecbu	Femme	15ans	Dr.Chena
2013	<i>E.coli</i>	18/02/2016	Ecbu	Femme	27ans	Dr.Chena
2028	<i>K.pneumoniae</i>	18/02/2016	Ecbu	Homme	76ans	Dr.Chena
2139	<i>E.coli</i>	20/02/2016	Ecbu	Femme	72ans	Dr.Chena
2305	<i>E.coli</i>	21/02/2016	Ecbu	Femme	35ans	Dr.Chena
2983	<i>K.pneumoniae</i>	27/02/2016	Ecbu	Homme	20ans	Dr.Chena
3004	<i>E.coli</i>	27/02/2016	Ecbu	Femme	32ans	Dr.Chena
3078	<i>K.pneumoniae</i>	27/02/2016	Ecbu	Homme	76ans	Dr.Chena
3223	<i>E.coli</i>	28/02/2016	Ecbu	Femme	33ans	Dr.Chena
3298	<i>K.pneumoniae</i>	29/02/2016	Ecbu	Femme	39ans	Dr.Chena
3302	<i>E.coli</i>	29/02/2016	Ecbu	Femme	63ans	Dr.Chena

Annexe I

311	<i>E.coli</i>	03/03/2016	Ecbu	Femme	31ans	Dr.Chena
63	<i>K.pneumoniae</i>	01/03/2016	Ecbu	Femme	32ans	Dr.Chena
2472	<i>E.coli</i>	22/02/2016	Ecbu	filles	3ans	Dr.Chena
2481 fm	<i>E.coli</i>	22/02/2016	Ecbu	Femme	24ans	Dr.Chena
2616	<i>E.coli</i>	23/02/2016	Ecbu	Femme	24ans	Dr.Chena
212	<i>E.coli</i>	02/03/2016	Ecbu	Homme	20ans	Dr.Chena
318	<i>E.coli</i>	05/03/2016	Ecbu	Homme	53ans	Dr.Chena
423	<i>E.coli</i>	05/03/2016	Ecbu	Homme	59ans	Dr.Chena
1039	<i>E.coli</i>	08/03/2016	Ecbu	Femme	26ans	Dr.Chena
707	<i>E.coli</i>	09/03/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
602	<i>E.coli</i>	09/03/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1345	<i>E.coli</i>	09/03/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
818	<i>E.coli</i>	09/03/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
753	<i>E.coli</i>	09/03/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
315	<i>E.coli</i>	05/03/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
1195	<i>E.coli</i>	13/03/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Idjaad
13/13	<i>E.coli</i>	05/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Lalaoui
4099	<i>E.coli</i>	13/01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr.Lalaoui
26035	<i>E.coli</i>	01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr. Ait Bachir
26036	<i>E.coli</i>	01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr. Ait Bachir

Annexe I

kpfm	<i>K.pneumoniae</i>	01/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr. Ait Bachir
001	<i>Proteus</i>	Mai/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr. Ait Bachir
002	<i>Proteus</i>	Mai/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr. Ait Bachir
003*	<i>Proteus</i>	Mai/2016	Ecbu	Femme	Adulte	Dr. Ait Bachir

Annexe II

Interprétation de l' Aspect des colonies sur milieu Chromagar (CHROMagar™ Orientation) (Denis *et al.*, 2007).

Espèce	Couleur de colonies
<i>Escherichia coli</i>	Colonies rose à pourpre
<i>KES-C (Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter)</i>	Colonies bleu vert à bleues avec ou sans auréole violette
<i>Proteus mirabilis, Morganella, Providencia</i>	Colonies pâles à beiges, cernées d'une auréole ambre à marron.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies muqueuses blanches brunâtres
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Colonies muqueuses blanches opaque
<i>Enterococcus Sp.</i>	Petites colonies bleu turquoise

Annexe II

Tableau II : Aspect des colonies sur milieu Chromagar (CHROMagar™ Orientation)*

code	Aspect	Souches
1096	Colonies bleu vert	<i>KES</i>
4079	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
462	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
899	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
757	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
41GN	Colonies bleu vert	<i>KES</i>
2218	Colonies bleu vert	<i>KES</i>
1461	Colonies bleu vert	<i>KES</i>
48516	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
1287	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
2481	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
1276	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
1202	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
75	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
1161	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
1707	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
1162	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
763	Colonies bleu vert	<i>KES</i>
1400	Colonies bleu vert	<i>KES</i>
1258	Colonies bleu vert	<i>KES</i>
405	Colonies rose à pourpre	<i>Escherichia coli</i>
320	Colonies bleu vert	<i>KES</i>
1641	Colonies bleu vert	<i>KES</i>

Annexe III

Tableau III : Les antibiotiques testées et les diamètres des d'inhibition édités par le CFA-SFM, 2013 et CASFM-EUCAST, 2016.

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Marque	Diamètre critiques	
					S	R
β-lactamines	Amoxicilline +acide clavulanique	AMC	30	HEMIDIA®	≥16	<16
β-lactamines	Imipénème	IMP	10	HEMIDIA®	≥22	<16
β-lactamines	Ertapénème	ERT	10	BIO-Rad OXOID	≥25	<22
β-lactamines	Méropénème	MEM	10	OXOID	≥22	<16
β-lactamines	Témocilline	TEM	10	BIO-Rad	≥20	<11

1 Composition des milieux de cultures (g/l d'eau distillée) :

Gélose Hektoen	g/l
Protéose peptone	12
Extrait de levure	03
Chlorure de sodium	05
Thiosulfate de sodium	05
Sels biliaires	09
Citrate de fer ammoniacal	1.5
Salicine	02
Lactose	12
Saccharose	12
Fuchsine acide	0,04
Bleu de bromothymol	0,065
Agar	14
pH	7,5± 0,2

2

Gélose Mac Conkey	g/l
Peptone de caséine	17
Peptone de viande	03
Sels biliaires	1.5
Cristal violet	0,001
Lactose	10
Rouge neutre	0,03
Chlorure de sodium	05
Agar	13,5
ZnSO4	0,07
pH	7,1 ±0,2

3

Gélose Mueller Hinton	g/l
Hydrolysât acide de caséine	17,5
Infusion de viande	02
Amidon	1,5
Agar	17
pH	7,4± 0,2

4

5

6

Annexes IV

CHROMagar orientation	g/l
Extrait de levure et peptone	17
Chromogenic mix	01
Agar	15
pH	07

1

Milieu Urée-Indole	g/l
Tryptophane	03
Phosphate monopotassique	01
Phosphate bipotassique	01
Chlorure de sodium	05
Urée	20
Alcool à 95	10 ml
Rouge de phénol	0,025
pH	07

2

Citrate de Simmons	g/l
Ammonium dihydrogenophosphate	01
Phosphate dipotassique	01
Chlorure de sodium	05
Citrate de sodium	02
Sulfate de magnesium	0,2
Bleu de bromothymol	0,08
Agar	20
pH	6,6 ±0,1

3

4

5

6

Annexes IV

Clark et Lubs	g/l
Peptone	05
Glucose	05
Phosphate bipotassique	05
pH	07

1

2

Bouillon nitraté	g/l
Infusion cerveau-coeur	25
Nitrate de potassium	10
pH	7,2 ±0,2

3

4

Gélose Nutritive	g/l
Peptone de viande	10
Extrait de viande	03
Extrait de levure	03
Chlorure de sodium	05
Agar	18
pH	7,3±0,2

5

6

Résumé

L'objectif de notre travail est de cribler des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes par méthode phénotypique et/ou à la colistine.

Des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes et/ou à la colistine ont été collectées au niveau de 5 laboratoires d'analyses médicales privés de la wilaya de Béjaia. Le criblage des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes est déterminé par différentes méthodes phénotypique, le carba-NP test modifié, le test de Hodge modifié et le test des inhibiteurs. L'étude de la résistance de ces souches vis-à-vis de la colistine était réalisée par des CMI.

Au total, 78 souches d'entérobactéries ont été collectées. Vingt-quatre souches d'entérobactéries (30.77%) sont résistantes aux carbapénèmes dont 7 souches de *K.pneumoniae*, 3 souches de *Proteus sp* et 14 souches de *E.coli*. Ces souches sont retrouvées probablement productrices de carbapénémases.

L'étude des CMI des souches vis-à-vis de la colistine a montré la présence de 7 souches résistantes.

Mots clés : Entérobactéries, Carbapénèmes, Colistine, Carbapénémases, Communauté.

Abstract

The aim of our work is to screen carbapenems and/or colistin resistant *Enterobacteriaceae* using phenotypic methods.

Enterobacteriaceae strains resistant to carbapenems and/or colistin were collected at 5 private medical analysis laboratories at Bejaia. Screening carbapenems resistant *Enterobacteriaceae* strains is determined by different phenotypic methods, carba-NP test modified, Hodge test and inhibitor test. MICs of the strains toward colistin was performed. 78 *Enterobacteriaceae* strains were collected. Twenty-four of *Enterobacteriaceae* strains (30.77%) were resistant to carbapenems including 7 *K. pneumoniae*, 3 *Proteus sp* and 14 *E. coli*. These strains are probably carbapenemases producing. The study of MICs of colistin showed the presence of 7 resistant strains.

Key words: *Enterobacteriaceae*, Carbapenems, colistin, carbapenemases, Community.