

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA – Béjaïa
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Magister

Option : Microbiologie Appliquée aux Substances Antimicrobiennes

Thème

*Caractérisation des phénotypes de résistance aux
 β -lactamines à large spectre des bacilles à Gram
négatif isolés au niveau du laboratoire central
mère et enfants du CHU Beni-Messous d'Alger*

Présenté par :

Mme MEDBOUA Chafiaa épouse BENBALAGH

Membre de jury :

Président : Pr. BENALLAOUA S.

(Professeur-UAMB)

Promoteur : Dr. TOUATI A.

(MCA-UAMB)

Co-promotrice: Dr. TOUATI D.

(Docteur-CHU Beni-Messous A)

Examineurs : Pr. NOUASRIA B.

(Professeur- UAMB)

Dr. AISSAT K.

(MCA-UAMB)

2010-2011

Remerciements

- ✚ Louanges à ALLAH le tout puissant pour m'avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce travail.
- ✚ Je remercie le Pr. BENALLAOUA S. pour avoir accepté de présider ce jury.
- ✚ Mes remerciements vont également à l'égard de Dr. AISSAT K. et Pr. NOUASRIA B. pour avoir accepté d'examiner ce travail.
- ✚ Je tiens à remercier profondément mon promoteur Mr TOUATI A. et ma co-promotrice Mme TOUATI D. pour m'avoir encadrés, en me faisant bénéficier de leurs connaissances, de leur aide et de leurs conseils.
- ✚ Je tiens à remercier Mr. BENSALD.
- ✚ Je tiens à remercier mon mari BENBALAGH Hamza pour sa présence, son aide et sa compréhension.
- ✚ Je tiens à remercier Mr. FENGAL Toufik et Mr. RADI Aissa pour leur aide et leurs conseils.
- ✚ Je tiens à remercier ma promotion de magister en microbiologie sans exceptions.
- ✚ Je remercie toute l'équipe qui travaille sur la résistance sans exceptions
- ✚ Je remercie tout le personnel de laboratoire central mère et enfant de CHU Beni-Messous pour leur aide et leurs encouragements.
- ✚ Et à toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

*En ce moment particulier dans ma vie,
je tiens à dédier ce modeste travail :*

*A mes chers parents,
symbole de reconnaissance
et de remerciement sur tout ce
qu'ils m'ont donné dans ma vie.*

*A mon mari, la personne la plus adorable
et la plus gentille.*

*A mes chères sœurs et cher petit frère
A mon cousin Benberkane Mehamed
et sa petite famille*

A toute ma famille

A mon promoteur et ma co-promotrice

A tous mes amis et camarades

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
--------------------------	----------

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I-LES BACILLES A GRAM NEGATIF	3
--	----------

I.1 Entérobactéries.....	3
I.1.1 Historique et Taxonomie.....	3
I.1.2 Habitat	4
I.1.3 Définition et caractéristiques.....	4
I.1.4 Identification du genre et espèce	5
I.1.5 Caractères antigéniques.....	7
I.1.6 Pouvoir pathogène.....	8
I.2 Le genre <i>Pseudomonas sp</i>	8
I.2.1 Historique et Taxonomie.....	8
I.2.2 Habitat	9
I.2.3 Caractères bactériologiques.....	9
I.2.4 Pouvoir pathogène.....	10
I.2.5 Virulence	10
I.3 Le genre <i>Acinetobacter ssp</i>	11
I.3.1 Historique et taxonomie	11
I.3.2 Habitat	11
I.3.3 Caractères bactériologiques.....	12
I.3.5 Virulence	13

II-LA RESISTANCE NATURELLE ET ACQUISE AUX B-LACTAMINES DES BACILLES A GRAM NEGATIF	14
---	-----------

II.1 La résistance naturelle	14
II.2 Résistance acquise	15
II.2.1 Modification des protéines liant la pénicilline.....	16
II.2.2 Imperméabilité de la membrane externe.....	16
II.2.3 Système d'efflux	17
II.2.4 Production de β -lactamases.....	17
A. Hyperproduction des céphalosporinases naturelles.....	20
B. Les céphalosporinases plasmidiques	21
C. Les β -lactamases à spectre étroit de type TEM, SHV et OXA.....	22
D. Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE).....	22

E. Les carbapénèmases	26
-----------------------------	----

PARTIE PRATIQUE

MATERIEL ET METHODES.....	30
I. Techniques de Prélèvement	30
I.1 Prélèvement d'urine	30
I.2 Prélèvement de selle.....	31
I.3 Prélèvement sanguin	31
I.4 Prélèvements de LCR.....	31
I.5 Prélèvements de pus	31
II. Méthodologie de diagnostic.....	31
II.1 Étude cyto bactériologique des urines	31
II.2 Coproculture	32
II.3 Hémo culture.....	32
II.4 Étude cyto bactériologique du LCR.....	33
II.5 Étude cyto bactériologique du pus	33
III. Identification	33
III.1 Identification des entérobactéries	33
III.2 Identification des souches de <i>Pseudomonas sp</i>	34
III.3 Identification des souches d' <i>Acinetobacter ssp</i>	35
IV. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	35
IV.1 Déduction des phénotypes de résistance	38
IV.1.1 DD-test (Test de synergie).....	38
IV.1.2 Test de confirmation (technique du double disque).....	39
IV.1.3 DD-test sur gélose à la cloxacilline	40
IV.1.4 Test de Hodge	40
IV.1.5 Test à l'EDTA.....	41
V. Transfert par conjugaison.....	41
VI. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	42
RESULTATS ET DISCUSSION	45
I. Prélèvements	45
II. Isolement et identification des souches	45
II.1 Répartition des souches par espèces	45
II.2 Répartition des souches par service	46
II.3 Répartition des souches selon la nature de prélèvement.....	47

II.4 Répartition des souches par sexe	47
II.5 Répartition des souches par âge	48
III. Résistance des souches aux β -lactamines.....	49
III.1 Répartition des souches résistantes par espèces.....	49
III.2 Répartition des souches résistantes par service.....	50
III.3 Répartition des souches résistantes par nature de prélèvement.....	51
III.4 Répartition des souches résistantes par catégorie d'âge	51
III.5 Répartition des souches résistantes par sexe	52
III.6 Antibiothérapie préalable	53
III.7 Taux de décès	53
III.8 Étude de la résistance des entérobactéries	54
III.9 Étude de la résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	55
III.10 Étude de la résistance des souches d' <i>A. baumannii</i>	56
III.11 Analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines.....	57
III.12 Déduction des phénotypes de résistance aux β -lactamines	59
IV. Transfert par conjugaison.....	60
V. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	61
VI. Discussion générale.....	64
CONCLUSION.....	75
BIBLIOGRAPHIE	77
ANNEXES.....	89

Liste des abréviations

ACE: Antigen Commun Enterobacteria

ACT: AmpC type

ADH: Arginine Déshydrogénase

AMC: amoxicilline/acide clavulanique

AmpC: Chromosomal located céphalosporinase

Asn: Asparagine

BEL: Belgium extended β -lactamase

BES: Brazil extended spectrum

BGT: Bouillon Glucosé Tamponné

bla: beta-lactamase

BLSE: β -lactames à spectre étendu

C3G: céphalosporines de troisième génération

C4G: céphalosporines de quatrième génération

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

CAU: From *Caulobacter crescentus*

CcrA: Cefotaxin and carbapenem resistant

CHU: Centre Hospitalo-universitaire

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI: Concentration minimale inhibitrice

CMY: Active on cephamycins

CphA: Carbapenem hydrolyzing and first (A)

CTX-M: Cefotaximase, first isolated at Munich

EDTA: Ethylenediamine tetra acetic acid

FOX: Active on cefoxitin

GES: Guiana extended spectrum β -lactamase

Gly: Glycine

GOB: *Chryseobacterium meningosepticum* class B

HMRU: Hôpital Militaire Universitaire Régional

HMS: Hedges, Matthew and Smith
IMI: Imipenem-hydrolyzing β -lactamase
IMP: Imipenemase
Kb: Kilo bases
KDa: Kilo Dalton
KLUA: *Kluyvera ascorbata*
KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapénèmases
LCR : Liquide Céphalo-Rachidique
LDC: Lysine Décarboxylase
LPS: Lipopolysacchadides
MH : Mueller Hinton
MIR:Miriam Hospital
MOX: Active on moxalactam
M β LS: Metallo- β -Lactamases
NMC-A: Non Metallo-Carbapénèmases de la classe A
ODC: Ornithine Décarboxylase
OHIO: state of Ohio
OMS: organisation mondiale de la santé
OXA: Oxacillinase
PCR: Polymérase Chain Reaction
PER: *Pseudomonas* extended resistant
PLP: Protéine de liaison aux pénicillines
PSE: *Pseudomonas*-specific enzyme
RM : Rouge de Méthyle
RND: Resisyence Nodulation dvision
SFC: *Serratia fonticola* resistant to carbapénème
SFM: Milieu au célérite de sodium
SFO: *Serratia fonticola*
SHV: Sulfhydryl variable
SI : Séquence d'insertion
SME: *Serratia marcescens* enzyme
TDA : Tryptophane désaminase

TEM: Temoniera

TLA: Tlahuicas Indians

Toho: Toho University School of Medicine

TSI: Tri Sugar Iron

UFC: Unité Formant colonie

VEB: Vietnamese extended spectrum β -lactamase

VHI: Virus of Humain Immunity

VIM: Verona integron-encoded metallo- β -lactamase

VP : Voges-Proskauer

Figure 1: schémas d'isolement à partir des selles.	32
Figure 2: Répartition des souches par groupe bactérien	45
Figure 3: Répartition des souches par services	47
Figure 4: Répartition des souches par nature de prélèvements	47
Figure 5: Répartition des souches par sexe	48
Figure 6: Répartition des souches par catégories d'âge	48
Figure 7 : Taux de résistance par nature de prélèvement.....	51
Figure 8 : Taux de résistance par sexe	52
Figure 9 : Pourcentage des patients sous antibiotiques	53
Figure 10: Taux de décès	54
Figure 11: Taux de résistance des entérobactéries <i>vis-à-vis</i> des β -lactamines.....	54
Figure 12: Taux de résistance des entérobactéries <i>vis-à-vis</i> des autres antibiotiques.....	55
Figure 13 : <i>K. pneumoniae</i> CHU42 productrice de BLSE.....	57
Figure 14 : <i>E. coli</i> CHU 12 productrice de BLSE.....	57
Figure 15 : <i>E. cloacae</i> CHU01 non productrice de BLSE	57
Figure 16: Double disque positif.....	57
Figure 17: Hyperproduction de céphalosporinase naturelle chez <i>E. coacae</i> CHU 01	58
Figure 18: <i>E. coli</i> CHU 24productrice d'une BLSE plus céphalosporinase	58
Figure 19: Test de Hodge	59
Figure 20: Les 03 <i>A. baumannii</i> produisant des métallos-carbapénemases	59

Tableau N° I : Résistance naturelle chez les entérobactéries	15
Tableau N° II : Résistance naturelle chez les bacilles à Gram négatif non fermentaires	15
Tableau N° III : Classification des β -lactamases	19
Tableau N° IV: Antibiotiques testés pour les entérobactéries	36
Tableau N° V: Antibiotiques testés pour <i>Pseudomonas</i> sp	37
Tableau N° VI: Antibiotiques testés pour <i>Acinetobacter</i> ssp	37
Tableau N° VII : Préparation des boîtes de cloxacilline.....	40
Tableau N° VIII : Préparation des concentrations d'antibiotiques pour 200 ml de MH, cas de la cefotaxime	43
Tableau N° IX: Répartition des souches par espèces	46
Tableau N° X: Taux résistance par espèces.....	49
Tableau N° XI: Significativité des souches par case (Test exact de Fisher)	50
Tableau N° XII: Taux de résistance par service.....	50
Tableau N° XIII: Significativité par service (Test exact de Fisher)	50
Tableau N° XIV : Significativité par prélèvement (Test exact de Fisher)	51
Tableau N° XV : Taux de résistance par catégorie d'âge.....	52
Tableau N° XVI : Significativité par âge (Test exact de Fisher).....	52
Tableau N° XVII : Taux de résistance des souches de <i>P. aeruginosa</i> vis-à-vis des β -lactamines.....	56
Tableau N° XVIII: Taux de résistance des souches de <i>P. aeruginosa</i> vis-à-vis des autres antibiotiques	56
Tableau N° XIX: Taux de résistance des souches de d' <i>A. baumannii</i> vis-à-vis des β -lactamines.....	56
Tableau N° XX : Taux de résistance des souches de d' <i>A. baumannii</i> vis-à-vis des autres antibiotiques	57
Tableau N° XXI : Phénotypes de résistance des souches d'entérobactérie.....	60
Tableau N° XXII : Phénotypes de résistance des souches de <i>P. aeruginosa</i>	60
Tableau N° XXII : Phénotypes de résistance des souches d' <i>A. baumannii</i>	60
Tableau N° XXIV : Diamètres des zones d'inhibition obtenus pour les transconjugants.....	61
Tableau N° XXV : Résultats des CMI des <i>A. baumannii</i>	61

Tableau N° XXVI : Résultats des CMI (µg/ml) des souches d'entérobactéries résistantes à la céfoxitine.....	62
Tableau N° XXVII : Résultats des CMI des souches d'entérobactéries résistantes aux β-lactamines, aminosides et quinolones et le transconjugant.....	63
Tableau N° XXVIII : Comparaison des taux de résistance des entérobactéries isolées aux autres études	67
Tableau N° XXIX : Comparaison des taux de résistance de nos souches avec ce qui est rapportés dans la littérature	68
Tableau N° XXX : Comparaison des taux de résistance de nos souches avec ce qui est rapporté en 2009 dans le même laboratoire.....	68
Tableau N° XXXI : Comparaison de nombre des souches productrices de BLSE dans des différents hôpitaux en Algérie avec nos souches	72

Introduction

La famille des β -lactamines comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par la présence d'un cycle β -lactame indispensable à l'activité antibiotique, associées à un mode d'action fort complexe sur des protéines de la membrane cytoplasmique, dénommées protéines liant la pénicilline (PLP) ou *penicillin binding proteins* (Cavallo et al., 2004 ; Cattoir, 2008).

L'introduction des céphalosporines de troisième génération (C3G) en pratique clinique au début des années 1980, permettant de lutter contre les infections à germes producteurs de pénicillinases, a été suivie, dès 1983, de la description de la première β -lactamase à spectre élargi (BLSE) chez *Klebsiella pneumoniae* en Allemagne. Plus de 200 BLSE ont maintenant été décrites et leur diffusion à travers le monde pose un véritable problème de santé publique (Grall et al., 2011).

Les carbapénèmes, derniers antibiotiques de la classe des β -lactamines, ont un très large spectre antibactérien et possèdent une grande stabilité *vis-à-vis* de la quasi-totalité des β -lactamases, ces molécules possèdent un large spectre d'activité *in vitro* contre les bactéries. Comme pour toutes les β -lactamines mises sur le marché, des souches résistantes sont rapidement apparues (Grall et al., 2011).

Chez les bactéries, il existe 4 types de mécanismes de résistance aux β -lactamines: la faible affinité pour les PLP, l'imperméabilité, l'efflux, et l'inactivation enzymatique par les β -lactamases (Poole, 2004). Les β -lactamases constituent le principal mécanisme de résistance aux β -lactamines, des bactéries à Gram négatif (Jacoby et Price, 2005). Ces enzymes peuvent être chromosomiques ou plasmidiques et produites d'une manière inductible ou constitutive. Elles sont sécrétées dans l'espace périplasmique chez les bactéries à Gram négatif ou dans le liquide extracellulaire chez les bactéries à Gram positif (Essack, 2001).

Les premières β -lactamases (pénicillinases à spectre étroit) plasmidiques (TEM-1/2, SHV-1) ont été initialement décrites dans les années 60 chez *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* et ont très vite diffusées parmi d'autres espèces d'entérobactéries, et d'autres bactéries : comme *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* et *Pseudomonas aeruginosa* (Cattoir, 2008).

L'épidémiologie des BLSE au sein des entérobactéries a récemment changé avec la dissémination massive des enzymes de type CTX-M (Ruppé, 2010).

La nouveauté est la description de plus en plus fréquente de souches résistantes aux carbapénèmes par acquisition des carbapénémases. Ce dernier phénomène, supporté par des structures génétiques mobiles donc transmissibles entre souches, est ainsi bien plus inquiétant (Grall et *al.*, 2011).

De plus, *P. aeruginosa* est caractérisé par son aptitude particulière à acquérir et cumuler de nombreux et variés mécanismes de résistance. Cette accumulation de mécanismes de résistance est devenue problématique car elle conduit, à une impasse thérapeutique en raison de l'émergence de souches dites totorésistantes *vis-à-vis* du panel d'antibiotiques actuellement disponibles sur le marché (Minchella et *al.*, 2010).

Depuis une trentaine d'années, la résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques n'a cessé d'augmenter, la combinaison de l'ensemble de ces mécanismes de résistance confère à *A. baumannii* un éventail très large de combinaisons de résistances, d'opportunités de dissémination et des épidémies intra-hospitalières (Poirel et Nordmann, 2006).

Cette étude vise à caractériser les mécanismes de résistance aux β -lactamines (β -lactamases à spectre étendu, carbapénémases, céphalosporinases plasmidiques, ...etc.) chez les bacilles à Gram négatif, dans l'hôpital Beni-Messous (Alger). Elle permettra de déterminer les taux de résistance aux β -lactamines ainsi aux autres familles d'antibiotiques de ces souches, de caractériser les phénotypes de résistance en cause, de déterminer les profils épidémiologiques de ces souches et de comparer ces derniers avec ceux rapportés dans la littérature. Pour développer ces aspects, nous avons adopté la méthodologie suivante :

- Isolement et identification des souches d'entérobactéries, *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter ssp* à partir de prélèvements pathologiques divers.
- Étude de la résistance de ces souches *vis-à-vis* des β -lactamines.
- Caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance aux β -lactamines.
- Étude de la capacité de transfert des gènes par conjugaison.
- Détermination des concentrations minimales inhibitrices *vis-à-vis* de certaines β -lactamines (céfotaxime, ceftazidime, cefepime, aztréonam et imipénème).

I-Les bacilles à Gram négatif

Les bacilles à Gram négatif, fréquemment isolés des laboratoires de bactériologie, occupent une place importante en pathologie humaine. Généralement, on les divise en deux grands groupes : les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (Liassine, 2000).

Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections communautaires et infections nosocomiales notamment les infections urinaires, les gastro-entérites sévères, les infections respiratoires...etc. Les bacilles à Gram négatif non fermentaires (*Pseudomonas sp*, *Acinetobacter ssp*...etc), quant à eux, sont à l'origine des infections nosocomiales diverses notamment chez les immunodéprimés (VIH, leucémiques, cancéreux, greffés...). L'importance de ces bacilles à Gram négatif est liée à leur multi résistance aux antibiotiques actuellement disponibles. C'est pourquoi ces bacilles à Gram négatif ont suscité de nombreuses études ces dernières décennies (Gueye, 2007).

Dans cette partie bibliographique, on s'intéressera aux souches d'entérobactéries, *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter ssp*, car ils sont les germes ciblés pendant la période de stage.

I.1 Entérobactéries

I.1.1 Historique et Taxonomie

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. La création de ce groupe a été proposée par Rahn en 1937 qu'il dénomma enterobacteriaceae et dans lequel il rassembla les genres bactériens déjà décrits (tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Shigella*) dans le genre unique *Enterobacter*. Les entérobactéries sont des *Eubactéries*, appartiennent à la division des *Proteobacteria*, la classe des *Gammaproteobacteria*, à l'ordre des *Enterobacteriales* et à la famille des *Enterobacteriaceae*. La subdivision des genres et espèces est basée sur la comparaison des caractéristiques physiologiques, biochimiques, antigéniques et génétiques des bactéries. Le séquençage des gènes codant pour l'ARNr 16S et surtout des gènes codant l'ARN polymérase B permet en effet une identification très précise de toutes les espèces (Joly et Reynaud, 2002).

I.1.2 Habitat

Les enterobacteriaceae sont nommées ainsi parce que la plupart des espèces qui composent cette famille sont des hôtes normaux ou pathogènes du tube digestif de l'homme et des animaux. On les trouve aussi dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux. Ils peuvent persister en dehors d'organismes vivants, on les rencontre dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires (Fauchère et Avril, 2002). *Salmonella typhi* qui est responsable de la fièvre typhoïde n'est retrouvée que dans l'intestin de l'homme malade (Joly et Reynaud, 2002).

I.1.3 Définition et caractéristiques

Les entérobactéries sont définies par un ensemble de caractères généraux communs. Ce sont des bacilles à Gram négatif, dont les dimensions varient de 6 µm de long et 0,3 à 1 µm de large. Ces dimensions varient suivant l'âge de la culture, l'espèce, la souche. Certaines espèces peuvent être très polymorphes, notamment le genre *Proteus*. Elles sont non sporulées, le plus souvent mobiles, mais immobiles dans le cas des bactéries des genres *Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia*. Elles sont aérobies-anaérobies facultatives et elles peuvent être cultivées sur les milieux ordinaires. Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites (sauf certaines souches d'*Erwinia* et *Yersinia*). Elles n'ont pas d'oxydase et possèdent une catalase (sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1). Ces caractères permettent de différencier les entérobactéries des autres bacilles à Gram négatif pouvant être cultivés sur des milieux ordinaires (Avril et al., 2000 ; Joly et Reynaud, 2002).

La culture des entérobactéries est rapide. Pour la plupart des espèces les colonies formées après 18-24 heures d'incubation à 35-37 °C sont bombées et rondes à bord net, leur surface est lisse et brillante, il s'agit des formes S « smooth ». Après repiquage en bouillon des colonies S, la culture se traduit par un trouble homogène sur toute la hauteur du tube. Après plusieurs repiquages d'une souche en phase S, les colonies deviennent rugueuses, sèches, plates, leur contour est irrégulier, leur teinte mate, il s'agit des formes R « rough ». En bouillon elles donnent une culture dont l'aspect est granuleux après agitation et elles forment des agglutinats spontanés qui sédimentent, elles sont auto-agglutinables dans une suspension en eau salée (2 % de NaCl) (Joly et Reynaud, 2002).

Les colonies des bactéries produisant une capsule, notamment de *Klebsiella pneumoniae*, sont muqueuses et plus grandes que les colonies habituelles (leur diamètre peut atteindre 10 mm), elles ont une consistance gélatineuse. Dans le cas des espèces *Proteus*

vulgaris et *Proteus mirabilis* qui sont particulièrement mobiles, il se produit fréquemment un envahissement de la surface des milieux solides qui s'étend par vagues successives et peut gagner en 24 heures la totalité de la surface (Joly et Reynaud, 2002).

Il existe cependant des entérobactéries ayant une croissance faible dont les colonies restent très petites (colonies naines). Il s'agit d'une exigence en un ou plusieurs facteurs de croissance. Pour d'autres bactéries la croissance est lente, les colonies de taille normale ne sont obtenues qu'après plusieurs jours d'incubation, c'est le cas de certaines espèces des genres *Shigella* et *Yersinia*. Pour ces dernières par exemple une incubation d'au moins 48 heures à 37°C est nécessaire (Joly et Reynaud, 2002 ; Bidet et Bingen, 2007).

Les entérobactéries sont des chimio-organotrophes, beaucoup sont prototrophes : à partir d'une source unique de carbone (sucre, ...) et d'énergie (électrons), elles sont capables de synthétiser tous les éléments nécessaires à leur survie et à leur croissance (Avril et *al.*, 2000).

I.1.4 Identification du genre et espèce

L'identification des différents genres et espèces repose sur plusieurs caractères biochimiques (Joly et Reynaud, 2002):

- **Étude des voies métaboliques de la fermentation des sucres**

Les entérobactéries sont des micro-organismes anaérobies facultatifs, c'est-à-dire que leur métabolisme peut être transféré de la respiration vers la fermentation lorsque leur environnement est privé en oxygène moléculaire (conditions anaérobies). Les deux voies fermentaires essentielles sont :

- Fermentation des acides mixtes, les sucres sont fermentés en acides mixtes. Chez certaines espèces il y a formation de métabolites supplémentaires tels que le gaz carbonique (CO₂), l'hydrogène moléculaire (H₂) et éthanol. Cette voie est notamment empruntée par les genres *Escherichia*, *Salmonella* et *Shigella*. Les bactéries utilisant ce métabolisme sont repérables grâce à la réaction au rouge de méthyle (RM).
- Fermentation butanediolique, la fermentation des sucres se traduit par la production de l'acétoïne. Cette voie est notamment empruntée par les genres *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia*. Les bactéries l'utilisant sont repérables grâce à la réaction de Voges-Proskauer (VP) qui permet la détection spécifique de l'acétoïne.

- **Fermentation des sucres et des polyalcools**

Ce métabolisme est étudié en eau peptonée additionnée d'un indicateur de pH (bleu de bromothymol ou rouge de phénol). La fermentation produit des acides qui entraînent le virage de l'indicateur par acidification.

- **Production d'un métabolite terminal et recherche d'enzymes**

Certaines réactions enzymatiques aboutissent à la production de métabolites qui sont identifiables grâce à une réaction spécifique, par exemple :

- Production indole à partir du L-tryptophane grâce à une tryptophanase.
- Production d'hydrogène sulfuré (H₂S) à partir du thiosulfate grâce à une thiosulfate réductase.
- Production de gaz par une hydrogène lyase.

Après action des bactéries sur un substrat, l'enzyme impliquée est détectée par la mise en évidence du substrat modifié ou d'un changement de la coloration initiale du milieu de culture, par exemple :

- Bêta-galactosidase révélée par acidification du milieu.
- Décarboxylases de la lysine (LDC) et de l'ornithine (ODC), transformées respectivement en cadavérine et putrescine, décarboxylase (ADC) et dihydrolase (ADH) de l'arginine, révélées par alcalinisation du milieu.
- Désaminases de la phénylalanine (PDA) et du tryptophane par tryptophane désaminase (TDA) qui les transforment respectivement en acide phénylpyruvique et en acide indolpyruvique dont la présence dans le milieu est révélée par le perchlorure de fer qui donne un précipité brun.
- Uréase qui produit à partir de l'urée du carbonate d'ammonium révélé par alcalinisation du milieu.

- **Culture en utilisant une source de carbone définie**

C'est un test d'assimilation, possible seulement avec des bactéries prototrophes. Cette étude permet de rechercher leur capacité à cultiver dans un milieu minimal synthétique dans lequel la substance carbonée est unique et définie. L'utilisation du citrate de sodium comme source de carbone est la recherche la plus courante.

I.1.5 Caractères antigéniques

L'étude des différents caractères antigéniques permet de classer en sérotypes les souches appartenant à une même espèce ou au même genre. La détermination des sérotypes à un grand intérêt épidémiologique pour certaines entérobactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Shigella* et *E. coli* (Avril et al., 2000).

Il existe plusieurs types d'antigènes :

- **Antigène commun**

Cet antigène, appelé « antigène de Kunitz » ou (ECA), est présent chez toutes les entérobactéries sauf certaines *Erwinia*. Il est généralement sous forme hapténique, non immunogène, mais il a cependant la capacité de sensibiliser les hématies. Sa forme immunogène existe chez de rares souches dont *E. coli O : 14* (Joly et Reynaud, 2002).

- **Antigène O ou somatique**

Cet antigène est localisé au niveau de la paroi bactérienne, de nature lipopolysaccharidique, possède une endotoxine bactérienne qui est thermostable et résiste à l'alcool ou à l'acide. Un immunosérum contenant les anticorps contre l'antigène O provoque une agglutination lente granulaire, difficile à dissocier par agitation. La spécificité O est perdue par les souches R qui sont autoagglutinables en eau physiologique (Fauchère et Avril, 2002).

- **Antigène H ou flagellaire**

Il n'existe que chez les bactéries mobiles. L'antigène H est constitué de la protéine flagelline, il est thermostable et inactivé par l'alcool. En présence d'anticorps, l'agglutination est floconneuse, lâche et facilement dissociée par agitation (Fauchère et Avril, 2002; Bidet et Bingen, 2007).

- **Antigène K ou capsulaire**

Cet antigène est généralement constitué d'une couche externe polysaccharidique ou protéique. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d'*E. coli* et l'antigène Vi de certaines *Salmonella* ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche inagglutinable pour les antisérum O. Ils sont détruits par une ébullition de deux heures. Les antigènes d'adhérences ou d'adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (Bidet et Bingen, 2007).

I.1.6 Pouvoir pathogène

En agriculture le pouvoir pathogène touche une grande variété d'arbres, de récoltes et de fleurs notamment les noyers, les chênes, le blé, les pommes de terre, les carottes, les betteraves sucrières, la canne à sucre, l'ananas...etc. Ces pathologies sont dues à quelques espèces adaptées au règne végétal, notamment à celles du genre *Erwinia* (Joly et Reynaud, 2002).

Chez les animaux, les entérobactéries sont responsables de plusieurs maladies infectieuses. Cependant leur spécificité d'hôte peut être très différente. Les shigelles sont seulement pathogènes pour les primates, par contre *E. coli* et les salmonelles sont observées à la fois chez les insectes, les reptiles et les mammifères. Les chats et les chiens sont sensibles à *E. coli* (infections urinaires, urogénitales et digestives) et certains *Proteus* (otites). La volaille est particulièrement exposée aux salmonelles (Avril et al., 2000).

Le pouvoir pathogène des entérobactéries chez l'homme est considérable. Les infections sont soit bien définies et peuvent concerner tous les sujets soit non spécifiques touchant les sujets immunodéprimés, en particulier ceux qui sont hospitalisés. Dans la majorité des cas, l'origine de l'infection est soit endogène à partir des flores bactériennes, soit exogène provenant de milieu extérieur. Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections :

➤ Les infections communautaires, il s'agit principalement des infections urinaires majoritairement provoquées par *E. coli*, les intoxications alimentaires provoquées par les Salmonelles, les infections pulmonaires provoquées par *Klebsiella pneumoniae*.

➤ Les infections nosocomiales, sont fréquentes à type d'infections urinaires, des plaies opératoires, d'infections pulmonaires, de septicémies, ainsi que d'autres localisations. En plus des bactéries déjà citées dans les infections communautaires avec un profil de multi résistance on cite: *Enterobacter sp*, *Serratia sp* (Avril et al., 2000 ; Joly et Reynaud, 2002).

I.2 Le genre *Pseudomonas sp*

I.2.1 Historique et Taxonomie

La classification en genres et espèces à l'intérieur de la famille des *Pseudomonadaceae* a longtemps reposée sur des caractères phénotypiques simples d'orientation. La simplification de cette classification a été réalisée par Stanier qui a étudié principalement l'assimilation des substances carbonées, et par Palleroni qui a classé les espèces de *Pseudomonas* en 5 groupes génomiques ; les *Pseudomonas* vrais appartenant au groupe I (Martin, 2007).

Le genre *Pseudomonas* a hébergé un nombre croissant d'espèces par manque de caractères phénotypiques spécifiques, puis a été restreint à une cinquantaine d'espèces après l'apport des travaux génétiques (Martin, 2007).

Le genre *Pseudomonas* est classé dans la famille des *Pseudomonadaceae*, l'ordre des *Pseudomonadales*, la classe des *Gammaprotobacteria*, division des *Proteobacteria*, embranchement des *Procaryotes* et règne des *bacteria* (Garrity et al., 2010).

I.2.2 Habitat

Ces bactéries occupent des niches écologiques variées, mais se retrouvent plus particulièrement dans les milieux humides tels que les eaux douces, les eaux de mer et les eaux thermales. Elles se retrouvent en plus petite quantité dans les eaux riches en matières organiques (en particulier les eaux stagnantes). Elles sont considérées comme une flore commensale chez l'homme ou l'animal. Certaines jouent un rôle pathogène dont *Pseudomonas syringae* chez les plantes et *Pseudomonas aeruginosa* chez l'homme et l'animal (Avril et al., 2000).

I.2.3 Caractères bactériologiques

➤ Caractères morphologiques et culturels

Bacilles à Gram négatif, en forme de bâtonnets droits et fins de 1 à 3 µm de long ; 0,5 à 1 µm de large, mobiles par une ciliature polaire, non sporulés. Parfois entourés d'une pseudo-capsule appelée slime qui peut jouer un rôle important dans la pathogénicité de ces bactéries. La culture est facile sur milieu complexe avec ou sans production de pigment, la température de croissance variée de 4 à 45°C selon les espèces, *P. aeruginosa* peut être cultivée à 41°C mais pas à 4°C. Ces souches sont capables de cultiver sur des milieux minéraux synthétiques avec une source simple de carbone : acétate, pyruvate et des milieux sélectifs à base de Cétrimide que l'on peut additionner d'antibiotique (acide nalidixique). Les colonies de *P. aeruginosa* sont polymorphes, soit large avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier (œufs sur le plat), soit des petites colonies mates légèrement bombées avec un bord circulaire régulier, des colonies muqueuses bombées, opaques, visqueuses parfois coulantes comme pour *Klebsiella*. La bactérie produit alors un polysaccharide extra-cellulaire qui est différent du slime (Avril et al., 2000).

Le genre *Pseudomonas* comprend des espèces fluorescentes produisant des pigments spécifiques. Les deux pigments les plus fréquents et caractéristiques sont la pyocyanine et la pyoverdine qui sont solubles dans les milieux de culture. Les espèces pigmentées sont par

exemple : *P. aeruginosa* produit les deux pigments, mais pouvant être perdus par mutation. *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae*, et *P. cichorii* produisent de la pyoverdine, *P. aureofaciens* : produit un pigment jaune orange ou pourpre (Matewish et Lam, 2004). Certaines souches sont apigmentées tel que *P. alcaligenes*, *P. stutzeri* et *P.* (Martin, 2007).

➤ Caractères biochimiques

Le genre *Pseudomonas* sont des bactéries chimio-organotrophes avec un métabolisme strictement respiratoire, qui utilisent l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons en aérobiose, sont oxydase positive, pour certaines espèces elles réduisent le nitrate en anaérobiose avec synthèse d'une nitrate-réductase. Elles sont caractérisées par la diversité des substrats hydrocarbonés utilisés comme source de carbone et d'énergie (avril et *al.*, 2000).

Pseudomonas aeruginosa dégage une odeur aromatique caractéristique de seringa due à la production d'ortho-amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigment, il hydrolyse aussi la gélatine et lécithine (Avril et *al.*, 2000).

I.2.4 Pouvoir pathogène

Les *Pseudomonas* sont Peu virulent pour l'individu normal, par contre ils sont considérés comme des agents infectieux redoutables lorsque les défenses immunitaires du sujet sont altérées. *P. aeruginosa* est l'exemple type de la bactérie pathogène opportuniste. Les malades particulièrement sensibles sont les nourrissons, les personnes âgées, les sujets atteints d'affections graves, chroniques, métaboliques (diabète) mais surtout hématologiques ou cancéreuses. Chez les brûlés, cette infection est l'une des causes majeures de mortalité (Avril et *al.*, 2000).

I.2.5 Virulence

Les toxines élaborées et les composés de la paroi des espèces de genre *Pseudomonas* sont considérés comme des facteurs essentiels de la virulence. En dehors des pigments, elle élabore des protéines et des substances toxiques. On distingue principalement : une hémolysine thermostable, des exo-enzymes (protéases, phospholipases) et des toxines protéiques (exotoxine, entérotoxine) (Garrity et *al.*, 2010).

I.3 Le genre *Acinetobacter ssp*

I.3.1 Historique et taxonomie

L'histoire du genre *Acinetobacter* remonte au début du 20^{ème} siècle, en 1911, quand Beijerinck, un microbiologiste hollandais décrit un organisme nommé *Micrococcus calcoaceticus* qui a été isolée du sol par enrichissement dans un milieu minimal contenant du calcium- acétate. Au cours des décennies suivantes, des organismes similaires ont été décrits et attribués à au moins 15 différents genres et espèces (Peleg et al., 2008).

La désignation actuelle du genre, *Acinetobacter* (du Grecque [Akinetos] qui veut dire non mobile), a été initialement proposée par Brisou et Prévot en 1954 et ce n'est qu'en 1968 que cette désignation de genre fut largement acceptée. Dans l'édition de 1974 du Bergey's Manuel of Systematic, le genre *Acinetobacter* a été répertorié, avec la description d'une seule espèce, *Acinetobacter calcoaceticus* (La souche type pour le genre et l'espèce est *A. calcoaceticus* ATCC 23055). Dans la "Approved List of Bacterial Names", en revanche, deux espèces différentes, *A. calcoaceticus* et *A. lwoffii*, ont été incluses, basé sur le fait que certains *Acinetobacter* peuvent acidifier le glucose tandis que d'autres non (Peleg et al., 2008).

Longtemps considéré comme un représentant de la famille des *Neisseriaceae*, le genre *Acinetobacter* comprend actuellement 32 espèces, ce genre est inclus dans la famille des *Moraxellaceae*, ordre des *Pseudomonadales*, classe des *Gammaproteobacteria*, division des *Proteobacteria*, embranchement des *Procaryotes* et règne des *bacteria* (Euzéby, 2010).

I.3.2 Habitat

Acinetobacter ssp est un germe ubiquitaire retrouvé dans les sols, l'eau potable, les eaux de surface ainsi que dans diverses denrées alimentaires. On estime que jusqu'à 25% de la population est porteur d'*Acinetobacter ssp* (Siegrist, 2000).

Des souches d'*Acinetobacter ssp* sont fréquemment isolées des eaux usées et des boues activées des stations d'épuration. Elles sont capables de stocker les phosphates sous forme de polyphosphates, mais leur rôle en tant qu'agent biologique d'élimination des phosphates a certainement été surestimé (Lambert, 2007).

En revanche, selon une étude récente, *A. baumannii* a été isolé dans plusieurs sources, comme la nourriture, par conséquent, la nourriture de l'hôpital pourrait être une source potentielle d'acquisition d'*A. baumannii* et de colonisation subséquente du tube digestif des patients hospitalisés (Giamarellou et al., 2008).

Chez l'homme et les animaux, les *Acinetobacter ssp* font partie de la flore cutanée normale. Ces bactéries sont isolées de la bouche, de la gorge, de la trachée, du nez, de la conjonctive. D'une manière globale, l'espèce pathogène ou saprophyte la plus fréquemment isolée est *Acinetobacter baumannii* (Euzéby, 2010). On les isole aussi de matériels divers : cathéters, appareils de ventilation assistée, cuvettes (Joly-Guillou et Bergogne-Bérézin, 2006).

Acinetobacter baumannii est l'agent fréquent de colonisation cutanée et muqueuse chez les patients hospitalisés en unités de soins intensifs. Cette bactérie est aussi responsable d'infection nosocomiales qui concerne essentiellement l'arbre respiratoire, l'appareil urinaire, les plaies, et peuvent évoluer vers une bactériémie. D'autres manifestations cliniques ont été observées : pleurésies, péritonites chez les dialysés, méningite, etc. ces infections se manifestent souvent par bouffées épidémiques et sont dues à des souches multirésistantes (Lambert, 2007).

I.3.3 Caractères bactériologiques

➤ Caractères morphologiques et culturels

Ce sont des coccobacilles, courts, à Gram négatif, non sporulés, parfois capsulés, immobiles (mais pouvant présenter une mobilité par saccade résultant de la présence de fimbriae polaires) (Peleg et al., 2008).

Les *Acinetobacter ssp* apparaissent au microscope après coloration comme des bacilles à Gram positif. Ceci s'explique par le fait que certains *Acinetobacter ssp* résistent parfois à la décoloration par l'alcool - acétone lors de la coloration par la méthode de Gram (Avril et al., 2000).

L'isolement des souches en milieu solide peut être obtenu après incubation à température comprise entre 30 et 37°C sur des milieux conventionnels (gélose au sang, gélose trypticase soja, etc.) et sur les milieux dédiés aux bacilles à Gram négatif comme la gélose Mac Conkey ou la gélose de Drigalski, à l'exception de l'*Acinetobacter baumannii* qui se caractérise par sa température de croissance entre 15°C et 44°C, critère essentiel dans le diagnostic différentiel avec les autres espèces. Les colonies apparaissent en générale lactose négatif sur les milieux lactosés (Lambert, 2007). À l'exception d'*Acinetobacter parvus*, le diamètre des colonies est de 0,5 à 2,0 mm après 24 heures d'incubation et de 2 à 4 mm de diamètre après 48 heures d'incubation (Euzéby, 2010).

L'identification des diverses espèces est difficile. En pratique, l'identification repose sur la capacité de développement à 37-41 et 44°C en bouillon trypticase soja après 48 heures,

l'hydrolyse de la gélatine et les galeries d'identification commercialisées API 20 NE (Lambert, 2007).

➤ **Caractères biochimiques**

Ce sont des aérobies stricts, catalase (+), oxydase (-), prototrophes, (Avril et *al.*, 2000). Ils ne réduisent généralement pas les nitrates en nitrites en milieu complexe. L'oxydation du glucose et d'autres sucres en acide gluconique résulte de la présence d'une glucose déshydrogénase membranaire. Une réponse négative est obtenue pour les tests LDC, ODC, ADH, production d'hydrogène sulfuré, indole, bêta-galactosidase et DNase. Une réponse variable est obtenue pour l'hydrolyse de la gélatine. Quelques souches produisent une uréase ou une phénylalanine désaminase d'activité faible (Gillespie et Hawkey, 2006).

I.3.4 Pouvoir pathogène

L'incidence des infections à *A. baumannii* a considérablement augmentée durant les 20 dernières années. En particulier dans les unités de soins intensifs et de chirurgie, des services où le risque de colonisation et d'infection est important, vu le terrain particulier des patients et la fréquence des manœuvres invasives (Giamarellou et *al.*, 2008).

Acinetobacter ssp est responsable d'infections urinaires chez les malades sondés et peut être isolé aussi lors de pleurésies, de pneumonies, et dans les crachats et aspirations de malades de réanimation, de conjonctivites, de sinusites, de suppurations cutanées, d'ulcérations intestinales, bactériémie ou une septicémie vraie, de péricardites et de méningites graves chez des malades âgés, fragilisés par une intervention chirurgicale majeure (Avril et *al.*, 2000).

I.3.5 Virulence

Parmi les facteurs de virulence, on reconnaît un lipopolysaccharide (LPS) impliqué dans le choc septique endotoxinique, de fins fimbriae responsables de l'adhérence à l'épithélium bronchique, gastrique, des protéines de membrane externe à l'origine de réponse inflammatoire (Joly-Guillou et Bergogne-Bérézin, 2006).

Le Quorum Sensing est décrit comme la capacité d'une bactérie à percevoir et répondre à la densité de la population bactérienne, au moyen d'une molécule de lactone-homosérine acétylée (acyl-HSLs). Une homosérine lactone a été détectée chez *Acinetobacter* et pourrait être à l'origine du mécanisme de régulation de l'expression de la virulence chez cet opportuniste comme cela a déjà été décrit chez *Pseudomonas aeruginosa* (Joly-Guillou et Bergogne-Bérézin, 2006).

II-La résistance naturelle et acquise aux β -lactamines des bacilles à Gram négatif

La dissémination des souches résistantes et l'apparition des nouveaux mécanismes de résistance notamment les β -lactamases, posent des sérieux problèmes au monde médical. Trois types de problèmes se posent: pour le clinicien, un problème thérapeutique (prescrire un antibiotique efficace et éviter la sélection de mutants résistants); un problème microbiologique car certaines résistances sont difficiles à détecter au laboratoire et nécessitent la mise en œuvre de méthodes spécifiques (β -lactamases à spectre élargi); un problème épidémiologique pour les équipes du contrôle de l'infection qui doivent limiter la dissémination des souches résistantes (Liassine, 2000).

II.1 La résistance naturelle

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique (Sylvie-Carle, 2009).

La résistance naturelle chez les bacilles à Gram négatif se manifeste souvent par des céphalosporinases chromosomiques qui s'expriment soit d'une manière constitutive ou inducible (Cavallo et *al.*, 2004). En plus d'une céphalosporinase, la production d'une oxacillinase naturelle chez *A. baumannii* lui confère un haut niveau de résistance (Bou et Martinez-Beltran, 2000 ; Héritier et *al.*, 2005).

Les tableaux I et II résument les phénotypes de résistance naturelle chez les entérobactéries, *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter ssp*.

Tableau N° I : Résistance naturelle chez les entérobactéries (Sougakoff et Trystram, 2003, CA-SFM, 2010).

Espèces	AM	AMC	TIC/PIP	C1G	FOX	CTT	MA	CXM
<i>Klebsiella sp</i>	R		R					
<i>C. koseri</i>	R		R					
<i>C. freundii</i>	R	R		R	R	R		
<i>E. cloacae</i>	R	R		R	R	R		
<i>E. aerogenes</i>	R	R		R	R	R		
<i>S. marcescens</i>	R	R		R	R		R	R
<i>P. mirabilis</i>								
<i>P. vulgaris</i>	R			R			R	R
<i>M. morganii</i>	R	R		R	R		R	R
<i>Y. enterocolitica</i>	R	R	R	R	R		R	R

R : résistance naturelle ; **AM** : aminopénicillines ; **AMC** : amoxicilline + acide clavulanique ; **TIC** : ticarcilline ; **PIP** : pipéracilline ; **C1G** : céphalosporines de 1ère génération ; **FOX** : céfoxitine ; **CTT** : céfotétan ; **MA** : céfamandole ; **CXM** : céfuroxime .

Tableau N°II : Résistance naturelle chez les bacilles à Gram négatif non fermentaires (Sougakoff et Trystram, 2003, CA-SFM, 2010).

Espèces	AM	C1G	C2G	FOX	CTX	CF
<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R
<i>Acenitobacter ssp</i>	R	R	R	R		

AM : aminopénicillines ; **C1G** : céphalosporines de 1ère génération ; **C2G** : céphalosporines de 2ème génération ; **FOX** : céfoxitine ; **CTX** : céfotaxime ; **CF** : ceftriaxone.

II.2 Résistance acquise

Les bactéries peuvent développer une résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme (Sylvie-Carle, 2009).

Le principal mécanisme de résistance acquis aux β -lactamines chez les bacilles à Gram négatif est la production des β -lactamases (cavallo et *al.*, 2004)

II.2.1 Modification des protéines liant la pénicilline

C'est un mécanisme de résistance acquis très largement répandu chez les bactéries à Gram positif (Maiti et *al.*, 2006). Chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP2 et une diminution de la quantité de la PLP1a (Faure, 2009). Chez l'*Acinetobacter baumannii*, le rôle de la perte ou de la diminution d'expression d'une PLP appelée PLP2 dans la résistance aux carbapénèmes a été suggéré par une étude qui reposait sur l'analyse des profils PLP d'une collection de souches résistantes à l'imipénème (Poirel et Nordmann, 2008).

II.2.2 Imperméabilité de la membrane externe

Chez les bactéries à Gram négatif, la pénétration des β -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe constituée de phospholipides s'effectue à travers les porines. La sensibilité aux β -lactamines dépend du nombre des porines fonctionnelles. L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistances acquises aux β -lactamines, soit par une modification structurale d'une des porines essentielles, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente (Cavallo et *al.*, 2004).

La résistance de *K. pneumoniae* par l'imperméabilité est due à des mutations ponctuelles, délétions et l'insertion des IS dans les gènes qui codent pour ces porines OmpK35, OmpK36 et OmpK37 (Skopkova-Zarnayova et *al.*, 2005).

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème est due dans la plus part des cas à la perte d'une porine nommée (oprD2) propre aux carbapénèmes, ce mécanisme est relativement fréquent, touchant de 15–20 % des souches en France (Nordmann, 2003 ; Grall et *al.*, 2011). La résistance ne s'exprime à haut niveau que si la perte de cette porine est accompagnée d'une hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique (Lahlou-A et *al.*, 2008).

Chez *A. baumannii*, la perte d'une porine d'environ 22 kDa a été rapportée par plusieurs équipes comme vraisemblablement impliquée dans la résistance aux carbapénèmes (Nordmann, 2010).

II.2.3 Système d'efflux

Les bactéries peuvent résister aux antibiotiques par exportations actives grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux, ces pompes d'efflux peuvent être des transporteurs drogues-spécifiques et confèrent une résistance vis-à-vis d'une seule classe d'antibiotiques (comme les pompes d'efflux des tétracyclines). Cependant la plupart de ces transporteurs peuvent prendre en charge des composés de structure très différente et contribuer ainsi de manière significative à la multirésistance (MDR pour *multidrug resistance*) (Cattoir, 2004).

Les systèmes d'efflux ont été décrits pour la première fois chez les bactéries à Gram négatif comme *E. coli* et *P. aeruginosa* (Li et al., 2000 ; Hocquet et al., 2004), ce système est généralement un complexe protéique avec une pompe transmembranaire, une protéine périplasmique de jonction et une porine de la membrane externe (Faure, 2009).

Chez *E. coli*, différents systèmes d'efflux contenant des pompes RND ont été décrits dont AcrAB-TolC est le mieux caractérisé (Kumar et Schweizer, 2005).

La résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques peut aussi résulter d'une augmentation de l'efflux actif, de complexe MexA–MexB–OprM induit une résistance ou une diminution de la sensibilité à la ticarcilline et à l'aztréonam, alors que la sensibilité à la pipéracilline et à la ceftazidime est conservée (Nordmann, 2003 ; Hocquet et al., 2004).

D'autre part, il existe chez *A. baumannii* un ou deux systèmes d'efflux dont certains ont une incidence sur la pénétration des antibiotiques en particulier les aminosides (Joly-Guillon, 2006). L'identification du système d'efflux de type RND a montré que l'activité des β -lactamines pouvait être affectée en cas de surexpression. Ce mécanisme ne semble cependant pas être seul responsable des phénotypes de résistance couramment observés mais jouerait un rôle important en association avec d'autres mécanismes (Poirel et Nordmann, 2008).

II.2.4 Production de β -lactamases

À l'heure actuelle, la production des enzymes hydrolytiques appelées β -lactamases est le mécanisme de résistance prédominant des bactéries à Gram négatif *vis-à-vis* des β -lactamines. Au début des années 1980, seules quelques enzymes de type plasmidiques comme TEM-1, TEM-2 et SHV-1 étaient connues, mais rapidement après l'introduction des antibiotiques à large spectre tels que les céphalosporines de 3^{ème} génération, sont apparues des β -lactamases à spectre étendu ou BLSE. Depuis, les β -lactamases ne cessent de se diversifier,

d'élargir leur spectre d'activité et leur diffusion parmi de nombreuses espèces d'entérobactéries, *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp* (Faure, 2009).

La classification des β -lactamases est basée sur deux schémas ; celui d'Amblar qui est fondé sur les propriétés moléculaires qui divise les β -lactamases en quatre groupes (de A à D). Les groupes A, C et D, et celui de Bush-Jacoby-Medeiros qui est fondé sur les propriétés fonctionnelles des enzymes (Maiti et *al.*, 2006 ; Villalobos et Struelens, 2006).

Tableau N° III : Classification des β -lactamases (Bush et Jacoby, 2010).

Bush-Jacoby group (2009)	Bush-Jacoby-Medeiros group (1995)	Classe moléculaire	Substrats préférés	Inhibition		Enzyme représentative
				Clavulanate ou tazobactam	EDTA	
1	1	C	Céphalosporines	-	-	E. coli AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1 ^e	ND	C	Céphalosporines	-	-	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Pénicillines	+	-	PC1
2b	2b	A	Pénicillines, première céphalosporines	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Céphalosporines à large spectre, monobactames	+	-	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Pénicillines	-	-	TEM-30, SHV-10
2ber	ND	A	céphalosporines à large spectre, monobactames	-	-	TEM-50
2c	2c	A	Carbénicilline	+	-	PSE-1, CARB-3
2ce	ND	A	Carbénicilline, céfépime	+	-	RTG-4
2d	2d	D	Cloxacilline	+/-	-	OXA-1, OXA-10
2de	ND	D	Céphalosporines à large spectre	+/-	-	OXA-11, OXA-15
2df	ND	D	Carbapénèmes	+/-	-	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Céphalosporines à large spectre	+	-	CepA
2f	2f	A	Carbapénèmes	+/-	-	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B (B1) B (B3)	Carbapénèmes	-	+	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1 L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	3	B (B2)	Carbapénèmes	-	+	CphA, Sfh-1
ND	4	Inconnu				

ND : Non déterminé. - : non Inhibé. + : inhibé. +/- : Variable.

Les β -lactamases sont nommées selon leur substrat préféré (IMP, OXA), leur propriété biochimique (SHV), gènes (AmpC), bactéries (PSE), patients (TEM), hôpital (MIR), région (OHIO) et selon leurs auteurs (HMS). Des enzymes modifiées ont la même désignation en lettre, mais possèdent un chiffre différent, qui est affecté selon l'ordre de leur description (TEM-1, 2, 3, . . . etc) (Jacoby, 2006).

A. Hyperproduction des céphalosporinases naturelles

La résistance chromosomique acquise aux C3G liée à l'hyperproduction de l'AmpC (mutation du gène régulateur *ampR*) s'individualise par une résistance à diverses β -lactamines dont la ticarcilline, la pipéracilline, les céfamycines, les C3G ou encore l'aztréonam, mais quelques β -lactamines restent actives telles les C4G (céfépime, cefpirome) et les carbapénèmes (imipénème). Cependant a émergé, depuis peu en clinique, la résistance acquise aux C4G, apparition des « AmpC chromosomiques à spectre élargi », en particulier en France. Les rares souches cliniques isolées (*E. cloacae*, *E. aerogenes*, *S. marcescens*) sont souvent hyperproductrices de leur céphalosporinase chromosomique, modifiée soit par mutation ponctuelle, soit par délétion de plusieurs bases (9 à 12) (Phillipon et Arlet, 2006).

La résistance de *P. aeruginosa* par hyperproduction de céphalosporinases est connue de longue date. Elle résulte d'une dérégulation permanente et stable du gène de la céphalosporinase, liée à une mutation d'un gène de régulation. Elle induit une résistance à toutes les β -lactamines, à l'exception des carbapénèmes. Les niveaux de résistance aux C3G et C4G sont variables. Sur l'antibiogramme, la souche devient résistante ou intermédiaire à tous les antibiotiques précédemment cités, à l'exception des carbapénèmes (Nordmann, 2003).

Comme indiqué plus haut, *A. baumannii* produit naturellement une enzyme de type AmpC responsable de la résistance à plusieurs β -lactamines. Le phénotype dit surexprimer est fréquemment observé et le mécanisme sous-jacent n'a été que récemment étudié (Corvec et al., 2003). La présence d'une séquence d'insertion (IS) appelée IS *Aba1* en amont du gène codant pour cette céphalosporinase est en fait liée à cette surexpression qui s'explique par le fait qu'en étant positionnée à quelques bases seulement du codon d'initiation du gène *bla_{ampC}*, IS *Aba1* apporte des séquences reconnues comme promotrices qui permettent donc d'élever très significativement le niveau de production de l'enzyme ce qui se répercute sur le phénotype de résistance par une élévation importante des CMI des β -lactamines (Héritier et al., 2006).

B. Les céphalosporinases plasmidiques

Ce n'est que vers 1988, que sont apparues aux Etats-Unis et en Europe, les premières souches cliniques de *Klebsiella* (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) montrant un phénotype de résistance de type céphalosporinase alors qu'elles n'en produisent pas naturellement. La découverte des céphalosporinases plasmidiques originaires d'entérobactéries, productrices naturelles, indiquait une nouvelle et importante étape de la résistance acquise aux antibiotiques (C3G en particulier) par mobilisation de gènes chromosomiques. Cette émergence d'un mécanisme de résistance tout à fait inédit et important allait s'amplifier et être démontrée chez diverses espèces d'entérobactéries : *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *Shigella* spp et dans divers pays ou continents (Phillipon et Arlet, 2006).

Les exemples d'AmpC plasmidiques incluent FEC-1, BIL-1, CMY-1 à 4, MIR-1, FPM-1, LAT-1 et MOX-1 (Livermore 1998). La majorité des AmpC plasmidiques sont constitutives et ont des propriétés similaires aux β -lactamases chromosomiques de classe C. D'autres enzymes AmpC plasmidiques inductibles ont été rapportées chez des souches de *K. pneumoniae* de type ACT-1, DHA-1 et DHA-2 (Phillipon et al., 2002 ; Coudron et al., 2003).

Ces enzymes sont en général fortement exprimées et confèrent des résistances aux carboxy et uréidopénicillines, ainsi qu'aux céphalosporines des groupes oxyimino (ceftazidime, céfotaxime, ceftriaxone, céfuroxime) et à l'aztréonam (Matthew et al., 2004). Les céphalosporines de quatrième génération céfépime et ceftpirome sont peu touchées et la sensibilité aux carbapénèmes n'est pas modifiée. Les inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam sont inactifs ou peu actifs sur les enzymes AmpC (Phillipon et al., 2002 ; Cavallo et al., 2004).

Les gènes *ampC* sont localisés dans des plasmides ayant une taille variable de 7 à 180 Kb. Ces plasmides porteurs du gène *ampC* peuvent transférer des gènes de résistance à d'autres familles d'antibiotiques (Phillipon et al., 2002).

Pour plusieurs de ces enzymes transférables, les progénitures ont été identifiées : groupe CMY (*Citrobacter freundii*), DHA-1 (*Morganella morganii*), groupe FOX (*Aeromonas caviae*), ACT-1 (*Enterobacterasburiae*) et ACC-1 (*Hafnia alvei*). Cette dernière céphalosporinase présente la particularité d'être inhibée par la céfoxitine. L'étude de l'environnement génétique de ces gènes a démontré que la mobilisation de ces gènes fait

intervenir des séquences d'insertion déjà évoquées pour certaines BLSE telles *ISEcp1*, *orf513* ou encore des IS comme IS26 (Phillipon et Arlet, 2006).

C. Les β -lactamases à spectre étroit de type TEM, SHV et OXA

Plusieurs β -lactamases plasmidiques ont été retrouvées chez les bacilles à Gram négatif. La plus connue chez les entérobactéries est la β -lactamase TEM-1 qui est responsable de la résistance à l'ampicilline observée chez environ 50% des souches d'*E. coli* (Livermore, 1995). Les β -lactamases de type SHV ont longtemps été endémiques au genre *Klebsiella*, avec un profil de résistance similaire aux β -lactamases de type TEM (Roy, 2000). Les enzymes OXA donnent généralement de faibles taux de résistance aux pénicillines avec des CMI pour l'ampicilline chez *E. coli* de l'ordre de 128 à 256 $\mu\text{g/ml}$ et celle des ureidopénicillines de 4 à 16 $\mu\text{g/ml}$ (Livermore, 1995).

Les enzymes TEM-2, SHV-1 et OXA-1 sont aussi répandues chez les entérobactéries, mais sont moins fréquentes que TEM-1. Ces enzymes hydrolysent les céphalosporines de première génération, et toutes les pénicillines excepté la témocilline et n'ont pas d'activité apparente sur les nouvelles céphalosporines (céphalosporines de troisième et quatrième générations) (Livermore, 1995).

D. Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

Le terme BLSE a été proposé pour la première fois en 1988 pour distinguer les β -lactamases plasmidiques donnant la résistance aux céphalosporines à large spectre d'où le nom « β -lactamases à large spectre ». Dans la fin des années 80, ce nouveau terme a été attribué aux BLSE de type TEM et SHV. A présent, une BLSE est une β -lactamase appartenant au groupe fonctionnel 2be (classe moléculaire A), inhibée par l'acide clavulanique et qui peut hydrolyser les céphalosporines (Giske et al., 2009).

Les BLSE ont aujourd'hui une répartition mondiale. Leur prévalence varie d'une région à une autre, d'une ville à une autre et même d'un hôpital à un autre. Les facteurs spécifiques de risque d'acquisition des BLSE chez les patients hospitalisés sont ; une longue hospitalisation, la sévérité de la maladie, l'intervention chirurgicale, le séjour au service de soins intensifs, et le port de cathéters artériels ou urinaires (Giske et al., 2009).

Jusqu'à la fin des années 90, la majorité des BLSE détectées étaient des dérivés de TEM-1/2 et de SHV-1, après évolution de ces enzymes anciennes par mutation(s) ponctuelle(s). Les souches productrices de BLSE étaient souvent associées à des épidémies

nosocomiales. A partir de 1995, de nouvelles BLSE notamment les CTX-M ont émergé de façon rapide chez les entérobactéries. Contrairement aux BLSE de type TEM et SHV, les mécanismes de diffusion de CTX-M semblent plus complexes, mettant en jeu la diffusion des plasmides et/ou d'autres éléments génétiques. Les autres BLSE (ex PER, VEB) restent plus rares et sont principalement détectées chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter sp* (Cattoir, 2008).

D.1 Les BLSE de type TEM

De nombreux dérivés de TEM-1/2 (> 150) ont été décrits à ce jour, dont plus de 100 avec un phénotype de BLSE. Bien que fréquemment retrouvées chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, les BLSE de type TEM ont aussi été rapportées parmi les autres membres de la famille des entérobactéries ainsi que *P. aeruginosa* (Bradford, 2001 ; Cattoir, 2008).

En Europe, les BLSE de type TEM les plus fréquentes sont TEM-24 chez *Enterobacter aerogenes*, TEM-3 et TEM-4 chez *K. pneumoniae*, et TEM-52 chez *Salmonella enterica* et *E. coli*. Les mutations responsables de l'élargissement de spectre ont généralement lieu au niveau de 4 positions de la protéine (positions 104, 164, 238 et 240) (Cattoir, 2008).

D.2 Les BLSE de type SHV

La majorité des dérivés de SHV-1 (> 60) ont un phénotype de BLSE, avec SHV-5 et SHV-12 étant les mutants les plus fréquents en Europe. Les BLSE de type SHV ont été détectées parmi de nombreuses entérobactéries (notamment *K. pneumoniae*) mais aussi chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter ssp*. Comme les dérivés de TEM, les mutations dans SHV-1 (68% d'identité avec TEM-1) ont lieu classiquement au niveau de quelques positions (notamment 238 et 240) (Cattoir, 2008).

D.4 BLSE de type OXA

La famille des BLSE de type OXA (OXA-18 et les dérivés d'OXA-2 et d'OXA-10) sont comparativement rare, et ont été trouvés la plupart du temps chez *P. aeruginosa*, avec la majorité qui résistent aux oxyimino céphalosporines tels que la ceftazidime. OXA-31 de *P. aeruginosa*, confère une résistance au cefepime mais pas au ceftazidime. Les BLSE de type OXA portent typiquement des mutations multiples, les dérivés d'OXA-10 portent souvent des substitutions au niveau de Gly167, qui sont responsables de la résistance au ceftazidime. Ces BLSE peuvent être plasmidiques ou chromosomiques. OXA-23 une enzyme chromosomique caractérisée chez *P. mirabilis*, OXA-40 chez *A. baumannii* et OXA-48 une enzyme plasmidique caractérisée chez *K. pneumoniae* présentent une activité carbapénémase (Poole, 2004).

D.4 BLSE de type CTX-M

Ces enzymes «émergentes» sont les plus fréquentes au sein des entérobactéries au niveau mondial après une diffusion rapide depuis le milieu des années 90. Au niveau de leur spectre d'activité, elles hydrolysent préférentiellement le céfotaxime, d'où leur nom de céfotaximases (Cattoir, 2008).

Certaines d'entre elles ont évolué plus récemment par mutation (ponctuelle ou non) générant un haut niveau de résistance à la ceftazidime telles les enzymes CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-19, CTX-M-23 ou encore très récemment CTX-M-32 dérivant par simple mutation (Asp240Gly) de CTX-M-1 (Philippon et Arlet, 2006).

Au niveau structural, les CTX-M ne sont pas proches des β -lactamases de type TEM ou SHV (< 40 % d'identité). A ce jour, de nombreux variant de CTX-M ont été décrits (>50), et sont classés en groupes phylogénétiques distincts : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45. Les enzymes Toho-1/2, décrites au Japon, sont très proches structurellement des CTX-M et sont donc classées parmi celles-ci (Cattoir, 2008).

CTX-M-3 et CTX-M-15 ont été rapportées pour la première fois en Algérie par Touati *et al.*, en 2006 chez les souches *E. coli*, *Enterobacter cloacae* et *K. pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de Béjaïa (Touati *et al.*, 2006). Ces enzymes ont évolué à partir des β -lactamases chromosomiques de *Kluyvera spp.* Les enzymes naturelles de *Kluyvera ascorbata*, désignées KLUA sont regroupées dans le même cluster que le groupe CTX-M-2. L'enzyme KLUA-2 de la souche de *K. ascorbata* IP15.79 est identique à la CTX-M-5 caractérisée chez une souche de *Salmonella typhimurium*. La β -lactamase naturelle KLUA-1 de la souche *Kluyvera georgiana* CUETM4246-74 a été regroupée dans le même cluster que les enzymes du groupe CTX-M-8 et la seule différence entre ces deux enzymes est une substitution dans la forme mature de l'enzyme et deux substitutions dans le peptide signal (Bonnet, 2004).

Les progénitures des enzymes des groupes CTX-M-1, CTX-M-9 et CTX-M-25 restent inconnus à ce jour. La mobilisation des gènes *bla_{CTX-M}* est due à plusieurs éléments. Des séquences d'insertion comme *ISEcp1* et *ISEcp1-like* ont été trouvées en amont de plusieurs gènes codant pour les CTX-M. D'autres séquences d'insertions ont été décrites, dont certaines en aval de gène *bla_{CTX-M}* (IS903-like en aval de CTX-M-14 et CTX-M-17) (Ruppé, 2010).

D.4 BLSE mineures

➤ **PER** : Sept enzymes ont été décrites, l'enzyme PER-1, initialement découverte en 1993 chez *P. aeruginosa* en Turquie, est fréquente chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter ssp*, mais a aussi été détectée chez *Salmonella typhimurium*, *Providencia spp*, *Proteus mirabilis*. Cette enzyme confère une résistance aux pénicillines, céfotaxime, ceftazidime, et à l'aztréonam mais variablement aux carbapénèmes et céphamycines. Son activité est bien inhibée par le clavulanate, sulbactam et le tazobactam (Nass et al., 2008).

En Turquie, une étude récente a montré que 32 % des souches résistantes à la ceftazidime de *P. aeruginosa* et 55 % de celles de *A. baumannii* étaient productrices de PER-1. Une seconde enzyme, PER-2 (86 % d'identité avec PER-1), a été détectée en 1996 chez *Salmonella typhimurium* en Argentine, et chez d'autres entérobactéries, *Vibrio cholerae* et *A. baumannii*. PER-2 n'a été détectée qu'en Amérique du Sud. Enfin, une souche de *P. aeruginosa* produisant à la fois PER-1 et la carbapénémase VIM-2 a été détectée en Italie (Empel et al., 2007 ; Cattoir, 2008).

➤ **VEB** : L'enzyme VEB-1 (38 % d'identité avec PER-1) a été retrouvée en 1996 dans une souche d'*E.coli* isolée chez un patient vietnamien, puis chez *P. aeruginosa* en Thaïlande. VEB-1 confère un haut niveau de résistance au ceftazidime, céfotaxime et à l'aztréonam et elle est inhibée par le clavulanate, sulbactam et tazobactam, mais aussi par l'imipénème et la céfoxitine (Nass et al., 2008).

Six dérivés de VEB-1 ont été décrits (VEB-2 à VEB-5). VEB-1 a été détectée chez *P. aeruginosa* au Koweït, en Chine, en Inde et au Bangladesh, chez *A. baumannii* en France, en Belgique et en Argentine, chez *P. stuartii* en Algérie, chez *Enterobacter cloacae* en France. Enfin, à noter que le gène codant pour VEB-1 est souvent localisé au sein d'un intégron et peut donc être associé à d'autres gènes de résistance comme *qnrA* (Poirel et al., 2003 ; Cattoir, 2008).

➤ **SFO-1** : cette enzyme n'a été identifiée qu'une seule fois en 1988 chez une souche de *Enterobacter cloacae* au Japon mais d'une part, elle présente la particularité d'être inducible et, d'autre part, d'avoir pour progéniture une entérobactérie d'isolement rare en bactériologie médicale, l'espèce *Serratia fonticola* (Phillipon et Arlet, 2006). Le plasmide portant le gène codant pour SFO-1 porte également le gène de régulation *ampR* qui est nécessaire également pour l'induction de la classe C. Cependant, à la différence de la classe C, SFO-1 ne peut pas hydrolyser les céphamycines et fortement inhibée par l'acide clavulanique (Bradford, 2001).

➤ **TLA-1** : cette enzyme a été décrite chez une souche d'*E. coli* isolée au Mexique en 1993. Depuis, plusieurs cas de bactériémies et d'infections urinaires nosocomiales dues à une souche de *K. pneumoniae* produisant à la fois SHV-5 et TLA-1 ont été rapportés au Mexique (Nass et al., 2008). TLA-1 hydrolyse préférentiellement la céphaloridine, cefotaxime, céfalotine, benzylpénicilline, et ceftazidime. L'enzyme est inhibée par le sulbactam, le tazobactam, et l'acide clavulanique. TLA-1 est une nouvelle BLSE de la classe A d'Ambler (Silva et al., 2000). Le gène codant l'enzyme TLA-2 est porté par un plasmide de 47 kb (pRSB101) isolé à partir d'eaux usées de traitement de plantes en Allemagne en 2002. Cependant, l'espèce hébergeant ce déterminant n'a pas pu être identifiée et aucune souche TLA-2 positive n'a été décrite à ce jour (Nass et al., 2008).

➤ **BES-1** : cette enzyme n'a été isolée qu'une seule fois à partir d'une souche de *S. marcescens* au Brésil en 1996 (Nass et al., 2008).

➤ **BEL-1** : cette enzyme a été identifiée chez une souche de *P. aeruginosa* en Belgique en 2004 (Nass et al., 2008).

E. Les carbapénèmases

Les carbapénèmes (imipénème, ertapénème et méropénème) sont aujourd'hui parmi les traitements de choix des infections sévères dues aux entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Mais leur utilisation pourrait être compromise par l'émergence de souches de bactéries résistantes également aux carbapénèmes (Cuzon et al., 2010a).

E.1 Les carbapénèmases de type GES

La famille des enzymes GES comprend 9 enzymes différents mais seulement 4 (GES-1, 2, 4 et 5) présentent une forte activité vis-à-vis des carbapénèmes, lorsque cette activité est faible, ces enzymes sont considérées comme des BLSE (Walther-Rasmussen et Hiby, 2007).

GES-1 est la première enzyme caractérisée en 1998 chez un isolat de *Klebsiella pneumoniae* en Guyane française. Les β -lactamases de type GES peuvent hydrolyser les céphalosporines à large spectre, carbapénèmes, céphamycines et les monobactames. La substitution de l'asparagine (Asn) en glycine (Gly) à la position 170 dans GES-1 a eu comme conséquence une enzyme résistante à l'acide clavulanique et capable d'hydrolyser l'imipénème, l'enzyme a été plus tard nommée GES-2 (Labuschagne, 2007).

GES-2 est caractérisée pour la première fois en Afrique de sud en 2000 chez *Pseudomonas aeruginosa*, GES-5 en Corée en 2003 chez *Klebsiella pneumoniae* et la

dernière c'est GES-9 caractérisée en 2004 chez *Pseudomonas aeruginosa* en France. Les souches productrices de ces enzymes sont prédominantes en Europe et l'Afrique de sud (Walther-Rasmussen et Hiby, 2007).

E.2 Les carbapénèmases de type KPC

La première souche productrice de KPC-1 a été isolée en 1996 en Caroline du Sud. Il s'agissait d'une souche de *K. pneumoniae* résistante à toutes les β -lactamines. Cette première description a été rapidement suivie par la publication d'un autre variant KPC-2. Sept autres variant ont été rapportés (KPC-3 à KPC-9), se distinguant par au moins deux substitutions d'acides aminés (Cuzon et al., 2010b). Ces enzymes sont majoritairement caractérisées chez *Klebsiella pneumoniae* mais à moindre degré chez *Pseudomonas aeruginosa* et certaines entérobactéries, la plupart ont été mise en évidence en Amérique du nord (Walther-Rasmussen et Hoiby, 2007).

Phénotypiquement, KPC-1, KPC-2, KPC-3 confèrent un haut niveau de résistance aux C3G. Les gènes KPC sont plasmidiques et se transmettent facilement par conjugaison (Phillipon et Arlet, 2006), ces derniers portent fréquemment d'autres gènes de résistance notamment aux aminosides et/ou aux fluoroquinolones, parfois même d'autres β -lactamases comme CTX-M-15 (Cuzon et al., 2010b).

Les enzymes de type KPC sont capables d'hydrolyser presque toutes les β -lactamines : pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactames (aztréonam). Seule l'activité des céphamycines et de la ceftazidime est peu modifiée. Parmi les céphalosporines de troisième génération, le céfotaxime est la molécule la plus hydrolysée, et parmi les carbapénèmes, KPC possède l'affinité la plus élevée pour le méropénème, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactame (Cuzon et al., 2010b).

E.3 Les carbapénèmases de la classe B

Deux principaux groupes de métallobetapénèmases ont été décrits : les enzymes de type IMP et VIM. Ces enzymes hydrolysent fortement les β -lactamines excepté les monobactames. 13 enzymes de type IMP et 7 enzymes de type VIM ont été rapportées. Les enzymes VIM et IMP possèdent une homologie structurale en acide aminé de 30 à 40%, ces deux enzymes sont souvent codées par des gènes mobiles insérés dans les intégrons, qui sont parfois portés sur des plasmides. IMP-1 était la première métallobetapénèmase acquise identifiée chez *P. aeruginosa* et les entérobactéries au Japon. Plusieurs dérivées de l'IMP-1 ont été rapportées : IMP-2 caractérisée chez un isolat d'*A. baumannii* en Italie, IMP-3 chez *Shigella flexneri* au Japon et IMP-4 chez les espèces d'*Acinetobacter sp* et de *Citrobacter sp*

en Chine. Récemment des nouvelles enzymes ont été rapportées : IMP-5 isolée à partir d'*A. baumannii* en Portugal, IMP-6 de *S. marcescens* au Japon, IMP-7 chez *P. aeruginosa* au Canada, IMP-8 chez *K. pneumoniae* en Taiwan, IMP-9 chez *P. aeruginosa* en Chine, IMP-10 chez *P. aeruginosa* et IMP-11 chez *A. baumannii* au Japon (Walther-Rasmussen et Hoiby, 2007 ; Poirel et Nordmann, 2008 ; Nordmann, 2010 ; Grall et al., 2011).

E.4 Les carbapénèmases de la classe D

Les carbapénémase de la classe D se caractérisent par une hydrolyse plus efficace de l'oxacilline comparée à celle de la benzylpénicilline. Elles hydrolysent l'amoxicilline, la méthicilline, la céphaloridine et à un degré variable la céfalotine. Les oxacillinases sont habituellement inhibées *in vitro* par le chlorure de sodium (NaCl) ce qui permet d'identifier leur production dans les laboratoires (Zarrilli et al., 2008).

OXA-48, décrite tout d'abord chez *K. pneumoniae* hydrolyse fortement les carbapénèmes et n'hydrolyse pas les C3G, cette enzyme n'est pas inhibée par l'acide clavulanique. OXA-48 est souvent associée à d'autres β -lactamases, en particulier les BLSE. Le réservoir naturel d'OXA-48 est *Shewanella sp.* Le gène qui code pour cette enzyme est localisé sur un transposon comportant deux séquences d'insertion identique assurant la mobilité et l'expression de ce gène (Nordmann et Carrer, 2010 ; Grall et al., 2011).

Chez *A. baumannii*, des oxacillinases aux propriétés de carbapénèmases ont été identifiées, neuf enzymes de ce type ont été mises en évidence dans des souches résistantes ou de sensibilité intermédiaire à l'imipénème. La première β -lactamase de ce type est OXA-23 (également appelée ARI-1) identifiée en Écosse initialement puis en France (Zarrilli et al., 2008). OXA-23 a été identifié dans un clone à l'origine d'une épidémie dans plusieurs unités d'un hôpital sud-coréen (Jeon et al., 2005). D'autres enzymes de ce type ont été rapportées (principalement en Europe) telles que OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-27, OXA-40 et OXA-58, qui ont la particularité d'hydrolyser l'imipénème significativement alors que leur spectre de substrat n'inclut pas la céftazidime. L'analyse du support génétique des gènes codant pour ces enzymes a montré une localisation chromosomique dans la plupart des cas mais une localisation plasmidique a été également démontrée pour les gènes codant les enzymes OXA-23 et OXA-58. Il s'agit de plasmides de haut poids moléculaires non-transférables par conjugaison (Poirel et Nordmann, 2008).

E.5 Les carbapénèmases rares

➤ **SME** : Ces enzymes SME sont caractérisées exclusivement chez *Serratia marcescens*, d'où le nom SME. On distingue 3 enzymes SME-1, SME-2 et SME-3, elles diffèrent par la substitution d'un ou 2 acides aminés, ces souches ont été isolées en Royaume Uni (SME-1 en 1982) et USA (SME-2 et SME-3 en 1992 et 2003 respectivement). Les gènes bla_{SME} ne sont pas mobiles et présents uniquement chez les sous espèces de *Serratia marcescens* (Walther-Rasmussen et Hoiby, 2007).

➤ **IMI et NMC-A** : Ce groupe d'enzyme est divisé en deux sous groupes : IMI et NMC-A, la différence structurelle entre ces deux sous-groupe est une substitution de 8 acides aminés, Le sous groupe 1 (IMI) renferme deux enzymes : IMI-1 et IMI-2 qui sont caractérisées chez *Enterobacter cloacae* et *E. asburiae* isolées en Amérique dans l'environnement clinique et naturel (rivière). Les gènes bla_{NMC-A} sont portés par le chromosome, tous les gènes sont associés au gène de régulation adjacent *nmc-R* qui régule la transcription. Le gène bla_{IMI-1} porté sur un plasmide est lié à l'*imi-R* qui code pour Lys-R (régulateur transcriptionnel). La présence d'une séquence d'insertion (IS2-like) en amont et un gène de transposase en aval de ces gènes suggère qu'ils sont mobilisés par des transposons (Walther-Rasmussen et Hoiby, 2007).

➤ **SFC-1 et SHV-38** : SFC-1 est caractérisée chez *Serratia fonticola* isolée en Portugal et SHV-38 produite par *K. pneumoniae* isolée en France. Les gènes qui codent pour ces enzymes sont portés par le chromosome (Walther-Rasmussen et Hiby, 2007). La SHV-38 diffère de SHV-1 par une seule substitution de spectre général d'activité, c'est la première enzyme de type SHV possède une activité carbapénémase (Poole, 2004).

Matériel et méthodes

Notre étude s'est déroulée durant une période de 08 mois : novembre 2010 à juin 2011, elle porte sur des patients hospitalisés dans des différents services du CHU Beni-Messous de la wilaya d'Alger.

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignement qui comporte :

- Nom et prénom.
- Age et sexe.
- Service d'hospitalisation.
- Nature de prélèvements.
- Antibiothérapie en cours.

I. Techniques de Prélèvement

I.1 Prélèvement d'urine

Après lavage hygiénique des mains et toilette soignée des organes génitaux externes, de préférence les urines du matin.

Après élimination du premier jet, les urines sont recueillies dans un tube stérile (environ 10 à 20 ml), le tube est fermé hermétiquement et porté au laboratoire dans une demi-heure, sinon il faut le placer dans de la glace (Djennane et *al.*, 2009).

Chez les nouveaux nés et les petits enfants, un collecteur stérile spécifique est utilisé. Ce dispositif à usage unique se pose après désinfection soignée du périnée. A la fin de la miction, le collecteur est ôté et fermé hermétiquement et porté au laboratoire dans une demi-heure, sinon il faut le placer dans de la glace (Djennane et *al.*, 2009).

Chez le patient porteur d'une sonde urinaire, il ne faut en aucun cas prélever dans le sac collecteur, le recueil est effectué par ponction à l'aide d'une seringue dans la paroi de la sonde après désinfection. On distingue le sondage avec des systèmes ouverts qui sont de moins en moins utilisés et le sondage avec un système fermé est plus représentatif, car il s'oppose à la colonisation par les bactéries grâce aux valves anti retour (Djennane et *al.*, 2009).

I.2 Prélèvement de selle

Les selles sont recueillies dès leur émission dans un pot propre, de préférence les selles du matin, le prélèvement est acheminé immédiatement au laboratoire (Mariani et Bingen, 2007a).

I.3 Prélèvement sanguin

Le sang est recueilli par ponction veineuse au niveau du pli de coude, la peau est désinfectée à l'aide de l'alcool on laisse agir pendant une minute. 10% de sang par apport à la quantité du bouillon est prélevé immédiatement dans les flacons d'hémoculture toute on évitant de les disposer sur des surfaces froides (Granier et Denis, 2007).

I.4 Prélèvements de LCR

Le prélèvement doit être effectué dans des conditions rigoureuses d'asepsie dans des tubes stériles, par ponction lombaire obligatoirement par le médecin traitant. Le prélèvement est immédiatement acheminé au laboratoire (Mariani et Bingen, 2007b).

I.5 Prélèvements de pus

Dans le cas où le pus est localisé dans un abcès superficiel fermé ou dans une cavité séreuse, le pus est récolté par ponction à l'aide d'une seringue stérile et cela après une désinfection soigneuse de la peau

Dans le cas des abcès ouverts, plaies suppurées ou pustules et les fistules où le pus s'écoule à l'extérieur, le prélèvement alors se fait à l'aide d'un écouvillon après désinfection de la plaie. Le prélèvement est effectué dans la partie la plus profonde de la plaie toute on évitant la contamination par la flore cutanée saprophyte. L'écouvillon doit être acheminé au laboratoire et humidifié par un bouillon afin d'éviter la dessiccation de prélèvement (Ploy et Denis, 2007).

II. Méthodologie de diagnostic

Les milieux utilisés et l'interprétation des résultats dépendent de la nature du prélèvement à analyser.

II.1 Étude cyto bactériologique des urines

Après un état frais des urines, on réalise une numération à l'aide d'une anse calibrée de 10µl, on ensemence 04 stries parallèles sur une gélose nutritive, et un isolement sur une gélose Mac conkey pour les bacilles à Gram négatif. Les boîtes sont incubées à 35°C pendant 18 H à 24H. Une culture est dite positive lorsque les numérations sont supérieures ou égales à 10⁵ bactérie/ml et d'aspect monomicrobien, on peut identifier deux types de bactéries dans le cas d'une uropathie (Bonacorsi, 2007).

II.2 Coproculture

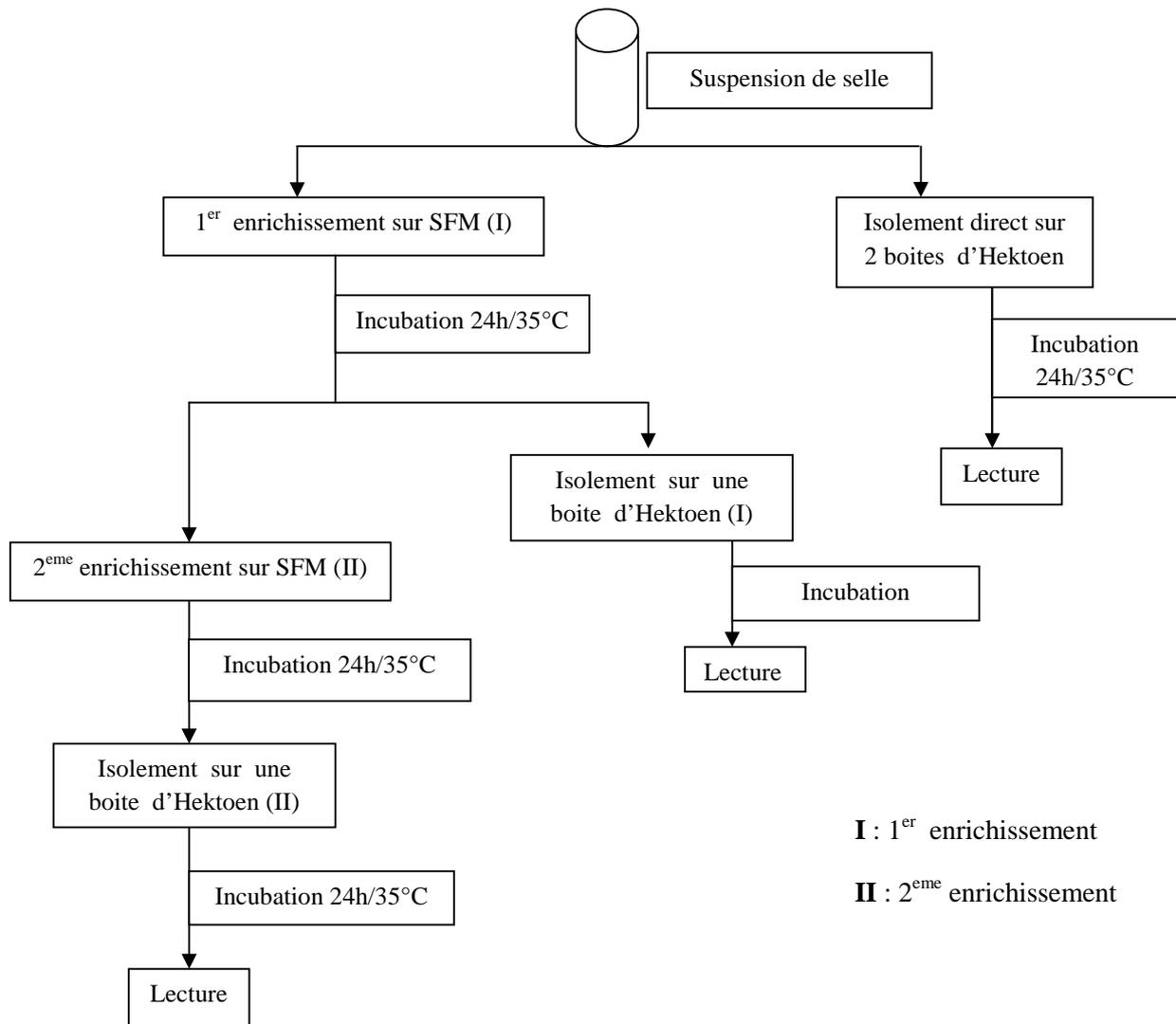


Figure 1: schémas d'isolement à partir des selles.

Sur chaque boite on recherche les bactéries entéropathogènes à savoir *Shigella* spp, *salmonella* spp et *E. coli* entéropathogènes (EPEC) chez les patients moins de 02 ans (Mariani et Bingen, 2007a).

II.3 Hémoculture

Après désinfection du bouchon du flacon d'hémoculture, à l'aide d'une seringue stérile, on prélève quelques gouttes qu'on ensemence sur une gélose au sang cuit et une gélose au sang frais, les boites sont incubées dans une atmosphère enrichie de 5% à 10% de CO₂ à 35°C pendant 24H à 48H, un isolement sur une gélose Mac conkey pour les bacilles à Gram négatif oxydatif. Des repiquages sont réalisés pour J1, J3, J10 et pour tout les flacons présentent des signes de positivité macroscopique (trouble, hémolyse, dépôt, voile en surface) (Granier et Denis, 2007).

II.4 Étude cyto bactériologique du LCR

Après un examen macroscopique, numération sur cellule de malassez et un frottis coloré pour les LCR à cytologie positive, on prélève un volume qu'on ensemence sur une gélose au sang cuit et une gélose au sang frais, les boîtes sont incubées dans une atmosphère enrichie de 5% à 10% de CO₂ à 35°C pendant 24H à 48H, un isolement sur une gélose Mac conkey pour les bacilles à Gram négatif oxydatif (Mariani et Bingen, 2007b).

II.5 Étude cyto bactériologique du pus

Après un examen direct par état frais ou coloration au bleu de méthylène en fonction du prélèvement, on ensemence quelques gouttes par stries, une gélose au sang cuit, une gélose au sang frais et une gélose Mac conkey, tout en réalisant un enrichissement dans un bouillon glucosé tamponné (BGT). Après l'incubation, à partir de bouillon d'enrichissement on ensemence les mêmes milieux si la culture dans les boîtes d'origine est négative. L'incubation est faite à 35°C pendant 24H à 48H, les boîtes de GSC et GSF sont incubées dans une atmosphère enrichie de 5% à 10% de CO₂, un isolement sur une gélose Mac conkey pour les bacilles à Gram négatif oxydatif (Ploy et Denis, 2007).

III. Identification

Dans ce travail réalisé, on est intéressé à l'identification des entérobactéries, *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter ssp*.

La première étape d'identification consiste à réaliser ; une coloration de Gram, recherche d'une catalase et oxydase.

III.1 Identification des entérobactéries

L'identification des entérobactéries est basée sur les caractères de la famille (bacilles à Gram négatif non exigeants, métabolisme fermentaire, aero-anaerobies, nitrate réductase positive, oxydase négative), la galerie biochimique suivante est réalisée afin de déterminer le genre et l'espèce :

- Étude de métabolisme glucidique sur gélose TSI et sur milieu Clark et Lubs.
- Étude de métabolisme peptidique par la dégradation des acides aminés sur milieu Moeller, recherche d'uréase, production d'indole, et d'une TDA sur milieu urée-indole
- Utilisation du citrate sur milieu citrate de Simmons.

(La composition de ces milieux est donnée en annexe).

Pour certaines souches l'identification est obtenue par une galerie API 20E.

Technique :

- On réunit 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.
- On prélève quelques colonies et on prépare une suspension bactérienne dans l'eau distillée stérile.
- On remplit les tubes et cupules des tests CIT, VIP et GEL avec la suspension bactérienne et on remplit uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- On réalise une anaérobiose dans les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- On referme la boîte d'incubation qu'on incube à 37°C pendant 24H.
- Après incubation, on note sur la fiche de résultat, toutes les réactions spontanées.
- La révélation des trois TDA, VP et indole est faite par l'ajout des réactifs nécessaires (TDA, VP1, VP2 et KOVACS).
- L'identification est obtenue à l'aide d'un code obtenu après la lecture de la galerie.

Pour les souches isolées en coproculture, un sérotypage est réalisé pour le genre *Salmonella* sp, *Shigella* sp et *E. coli* par la technique d'agglutination sur plaque.

III.2 Identification des souches de *Pseudomonas* sp

L'identification présomptive des souches de *Pseudomonas* est basée sur la pigmentation des colonies sur les géloses, lactose négatif, oxydase positive et bacilles à Gram négatif, les colonies caractéristiques sont purifiées sur gélose Mac Conkey.

Une mini galerie est lancée afin de distinguer entre *Pseudomonas aeruginosa* qui pousse à 42°C et *Pseudomonas fluorescens* qui pousse à 4 °C.

La galerie consiste à :

- Préparer une suspension légèrement trouble.
- On ensemence deux tubes de bouillon nutritif avec le même volume (une goutte), les bouillons doivent être clairs.
- On incube un bouillon à 4 °C et l'autre à 42°C pendant 24H.
- Le résultat positif se manifeste par un trouble.

L'identification de certaines souches est obtenue par une galerie API 20NE.

Un typage est réalisé à l'aide des sérums agglutinants en nombre de 16 pour les espèces de *Pseudomonas aeruginosa* afin de déterminer les serovars, le typage permet l'étude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*.

III.3 Identification des souches d'*Acinetobacter* ssp

Les souches ayant les caractéristiques suivants ; colonies blanchâtres et muqueuses sur les géloses, lactose négatif, bacilles à Gram négatif et oxydase négative sont réisolées sur gélose Mac Conkey. L'identification des souches est faite par une galerie API 20 NE.

Technique:

- On réunit 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.
- On prélève quelques colonies dans 2ml d'eau physiologique et on prépare une suspension bactérienne équivalente à 0,5 McFarland.
- On remplit les tubes (et non les cupules) des tests NO₃, TRP, GLU, ADH, URE, ESC, GEL et PNPG avec la suspension.
- On réalise une anaérobiose dans les tests GLU, ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- On verse le reste de la suspension dans une ampoule de 7ml de milieu synthétique AUX Medium.
- Après homogénéisation, on remplit les tubes et cupule des tests GLU,ARA, MNE, MAN, NAG, MAL, GNT, CAP, ADI, MLT, CIT, PAC.
- On referme la boîte d'incubation qu'on incube à 30°C pendant 24H à 48H.
- Après incubation, on note sur la fiche de résultat, toutes les réactions spontanées.
- La révélation des NO₃ et TRP est faite par l'ajout des réactifs nécessaires (NR1, NR2, JAMES ou KOVACS)

IV. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité de toutes les souches *vis-à-vis* des β-lactamines et d'autres familles d'antibiotiques est testée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du CLSI 2008 (OMS, 2008).

Les tableaux suivants montrent les Liste des antibiotiques testés selon les recommandations du CLSI (OMS, 2008).

Tableau N°IV: Antibiotiques testés pour les entérobactéries

Antibiotiques	Abréviations	Charges (μg)	Familles
Ampicilline	AMP	30	β-lactamines
Amoxicilline+Acide clavulanique	AMC	20+10	
Céfazoline	CZ	30	
Céfotaxime	CTX	30	
Céfoxitine	FOX	30	
Imipénème	IMP	10	
Gentamycine	GM	10	Aminosides
Amikacine	AK	30	
Acide nalidixique	NA	30	Quinolones
Ciprofloxacine	CIP	5	
Chloramphénicol	C	30	Phénicoles
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	SXT	1.25+23.75	Sulfamides
colistine	CS	50	Polymyxine
Furane	FT	300	Nitrofurane

Tableau N° V: Antibiotiques testés pour les souches de *Pseudomonas* sp

Antibiotiques	Abréviations	Charges (μg)	Familles
Ticarcilline	TIC	75	β-lactamines
Ticarcilline + ac.clavulanique	TCC	75+10	
Pipéracilline	PEP	100	
Céftazidime	CAZ	30	
Aztréonam	ATM	30	
Imipénème	IMP	10	
Gentamycine	GM	10	Aminosides
Amikacine	AK	30	
Netilmicine	NET	30	
Tobramycine	TM	10	
Ciprofloxacine	CIP	5	Quinolones
colistine	CS	50	Polymyxine

Tableau N° VI: Antibiotiques testés pour les souches d'*Acinetobacter* ssp

Antibiotiques	Abréviations	Charges (μg)	Familles
Ticarcilline	TIC	75	β-lactamines
Ticarcilline + ac.clavulanique	TCC	75+10	
Pipéracilline	PEP	100	
Céftazidime	CAZ	30	
Aztréonam	ATM	30	
Imipénème	IMP	10	
Gentamycine	GM	10	Aminosides
Amikacine	AK	30	
Tobramycine	TM	10	
Rifampicine	RA	5	Quinolones
Ciprofloxacine	CIP	5	
Doxycycline	DOX	30	Tetracyclines
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	SXT	1.25+23.75	Sulfamides
Colistine	CS	50	Polymyxine

Inoculum :

A partir d'une culture pure de 18H à 24H sur milieu d'isolement, on prélève à l'aide d'une anse quelques colonies bien isolées qu'on dissocie dans 10ml d'eau physiologique, bien homogénéiser la suspension bactérienne, sa charge doit être équivalente à 0,5 McFarland (correspondant à environ 10^8 bactéries/ml).

Ensemencement :

L'ensemencement est fait par la méthode d'écouvillonnage ; on trempe l'écouvillon dans la suspension bactérienne, on frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface, de haut en bas, en stries serrées. On répète l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. On dépose les disques d'antibiotiques à tester. On incube les boîtes pendant 24H à 35°C .

Des souches de contrôle de qualité; *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sont testées en parallèle, afin de valider les résultats d'antibiogramme.

Lecture :

Avant de lire l'antibiogramme, on valide la lecture par les souches témoins qui doivent donner des valeurs précises afin d'interpréter l'antibiogramme. On mesure 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 les recommandations de CLSI 2008.

Les souches d'entérobactéries présentant un diamètre réduit à la Céfotaxime avec ou sans image de synergie (CTX-AMC), les souches de *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter ssp* présentant un diamètre réduit à la Céfotazidime avec ou sans image de synergie (CAZ-TCC) ou l'imipénème ont été retenues.

IV.1 Déduction des phénotypes de résistance**IV.1.1 DD-test (Test de synergie)**

La production d'une β -lactamases à spectre élargi a été détectée par l'épreuve de la synergie qui consiste à placer des disques de céftazidime, céfotaxime, céfepime et aztréonam (30 μg chacun) à une distance définie (centre à centre) d'un disque d'AMC (amoxicilline-clavulanate) (20 μg et 10 μg , respectivement) pour les entérobactéries et TCC (Ticarcilline-

clavulanate) (75 µg et 10 µg respectivement) pour les *Pseudomonas sp* et les *Acinetobacter ssp*. La distance est déterminée en fonction de groupe bactérien et le diamètre d'inhibition *vis-à-vis* de la céphalosporine de 3^{ème} génération.

L'apparition d'une image de synergie entre le disque d'AMC ou TCC et les disques ceftazidime, céfotaxime, cefepime ou aztréonam indique la production d'une BLSE.

Dans le cas des *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, une image de synergie entre la TCC (Ticarcilline-clavulanate) et la cefepime est recherchée dans le but de caractériser les BLSE de type VEB (Naas et Nordmann, 2003).

IV.1.2 Test de confirmation (technique du double disque)

Ce test est fait pour les souches qui ne présentent pas une image de synergie, avec diminution des diamètres des céphalosporines de 3^{ème} génération et pour déterminer si il ya production d'une BLSE.

Technique :

- Pour les entérobactéries on dépose un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (céfotaxime) à une distance de 30mm (centre à centre).
- Pour *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp* on dépose un disque de TCC avec un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (ceftazidime) ou monobactam (aztréonam) à une distance de 30mm.
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse).
- Après diffusion, on enlève le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de céfotaxime, ceftazidime ou aztréonam selon la souche.
- On incube la boîte 37°C pendant 24 H.

Lecture :

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération, ce qui indique une production d'une BLSE (OMS, 2008).

IV.1.3 DD-test sur gélose à la cloxacilline

Pour certaines souches de bacilles à Gram négatif, il est parfois difficile de distinguer les β -lactamases à spectre élargi (BLSE), la production des ces dernières peut être masquée par l'hyperproduction des céphalosporinases.

Dans ce cas, on refait le test de synergie en utilisant la gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline afin d'inhiber l'activité céphalosporinase. La concentration de la cloxacilline est déterminée selon le groupe bactérien (Tableau I). La comparaison des diamètres d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline permet de mettre en évidence la présence d'une BLSE seule ou associée à une céphalosporinase.

Tableau N° VII : Préparation des boîtes de cloxacilline (OMS, 2008)

	Entérobactéries du Groupe 1 et 2	Entérobactérie groupe 3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
Concentration en Cloxacilline	0,25mg/ml	0,3mg/ml	0,5mg/ml	0,25mg/ml
Préparation de la solution cloxacilline	25mg de Cloxacilline + 10ml d'eau distillée	30mg de Cloxacilline + 10ml d'eau distillée	50mg de Cloxacilline + 10ml d'eau distillée	25mg de Cloxacilline + 10ml d'eau distillée
Pour une boîte	2ml de la solution +18ml de MH			

N.B : Ces concentrations peuvent être plus importantes devant les céphalosporinases qui ne sont pas inhibées par les concentrations classiques.

IV.1.4 Test de Hodge

Ce test est réalisé afin de mettre en évidence la production d'une carbapénémase pour les souches qui présentent un profil de résistance à l'imipénème, le test est réalisé comme suit :

- On ensemence par la méthode d'écouvillonnage une gélose MH ou Mac Conkey une suspension à 0,5 McFarland d'une souche d'*E. coli* sauvage ATCC 25922 (sensible à l'imipénème),

- On dépose un disque d'imipénème au centre de la boîte, puis on ensemence les souches à tester par stries à partir du disque d'imipénème jusqu'à la périphérie de la boîte.
- Après une nuit d'incubation à 37 °C, la déformation du diamètre d'inhibition à l'intersection entre une strie et la culture d'*E. coli* indique la production d'une carbapénémase qui hydrolyse l'imipénème par la souche testée (Lee et al., 2010).

IV.1.5 Test à l'EDTA

Ce test est fait pour mettre en évidence la production des carbapénémases de la classe B d'Ambler (mérallo- β -lactamases) qui confèrent une résistance à l'imipénème, inhibées par l'EDTA (chélateur).

- On dépose 4 μ L d'une solution d'EDTA 0,5M ; pH : 8 sur un disque d'imipénème,
- On compare le diamètre obtenu avec celui du disque d'imipénème seul.
- Le résultat positif se traduit par une augmentation de la zone d'inhibition autour de disque imipénème plus l'EDTA par apport au disque d'imipénème seul (Philippon et Arlet, 2006).

Un deuxième test est réalisé afin de mettre en évidence une image de synergie entre un disque d'imipénème et un disque de l'EDTA.

- Des disques d'imipénème de 10 μ g et des disques de papier filtre vierge ont été placés à des distance différentes (10, 15 et 20 mm) bord à bord, ensuite 10 μ l une solution d'EDTA de 0,5 M est appliquée sur les disques vierges.
- Après l'incubation, un résultat positif se traduit par une image de synergie entre le disque d'imipénème et celui de l'EDTA (Jeong et al., 2006).

V. Transfert par conjugaison

Souches donatrices : *K. pneumoniae* (CHU 41, CHU 45, CHU 29), *Sal. typhimurium* (CHU 20) et *Acinetobacter baumannii* (CHU 10, CHU 11, CHU 36) caractérisées par la sensibilité à la rifampicine et la résistance à la ceftazidime.

Souche réceptrice : *E. coli* C600 résistante à la rifampicine et sensible à la ceftazidime.

Les solutions d'antibiotique utilisées pour la sélection sont : la solution de la rifampicine à une concentration finale de 500µg/ml et la solution de la ceftazidime à une concentration finale de 8 µg/ml.

Le transfert des gènes de résistance a été réalisé en suivant le protocole préconisé par Touati (2006).

- On cultive les souches donatrices et la souche réceptrice dans 10 ml de bouillon trypticase soja. On incube à 37°C au bain-marie agitateur pendant une nuit (18h).
- On prélève 200µl de la culture de la souche réceptrice et donatrice qu'on ajoute à 10ml de bouillon trypticase soja (dilution de 1/ 50) puis on incube à 37°C pendant 3 heures.
- Dans un erlen stérile, on mélange 2ml de la culture de la souche réceptrice avec 1ml de la culture de la souche donatrice et 1ml du bouillon trypticase soja (un rapport 2V/V/V).
- On incube le mélange pendant 6 heures.
- On sélectionne les transconjugants sur la gélose Mueller Hinton additionnée des deux antibiotiques : la ceftazidime et la rifampicine.
- Des boîtes témoins contenant de la gélose MH additionnée de rifampicine (culture des souches donatrices) et une autre boîte contenant le milieu MH additionné de ceftazidime (culture de la souche réceptrice) sont préparées afin de vérifier la sélectivité du milieu.
- On étale 200µl du mélange avec un râteau étaleur sur la surface des boîtes de sélection et on ensemence la souche réceptrice et donatrice séparément sur les boîtes témoins.
- On incube les boîtes témoins et de sélection à 37°C pendant 18 heures.

L'étude de la résistance des transconjugants aux antibiotiques est réalisée par la méthode de l'antibiogramme standard en prélevant avec une cure dent stérile, une colonie (du transconjugant) qu'on dissocie dans 1ml d'eau physiologique stérile. A partir de cette dernière, on réalise l'antibiogramme.

VI. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La recherche des concentrations minimales inhibitrices (CMI) est réalisée *vis-à-vis* de plusieurs antibiotiques en fonction des phénotypes de résistance des souches.

Pour les souches d'*Acinetobacter baumannii* résistants à l'imipénème, les CMI est réalisées *vis-à-vis* d'imipénème ceftazidime et aztréonam sur une gélose MH additionnée de

cloxacilline à une concentration finale de 250µg/ml afin d'inhiber les céphalosporines naturelles et sur une gélose MH additionnée de la cloxacilline et d'une solution d'NaCl à une concentration finale de 200mM qui correspond à une concentration de 0,0116 g/ml pour réduire l'activité des oxacillinases.

Pour les souches d'entérobactéries résistantes à la céfoxitine (non naturellement productrices d'une AmpC, les CMI est réalisées *vis-à-vis* de la céfoxitine, céfotaxime, ceftazidime et céfepime sur une gélose MH simple et sur une gélose MH additionnée de cloxacilline à une concentration finale de 250µg/ml pour comparer les valeurs des CMI obtenues avec et sans cloxacilline.

Pour les souches d'entérobactéries productrices d'une BLSE associée à une résistance aux aminosides et aux quinolones et pour le transconjugant TC-29, les CMI est réalisées *vis-à-vis* de la céfotaxime, ceftazidime, céfepime et aztréonam sur une gélose MH simple.

Une solution mère est préparée pour chaque antibiotique à des concentrations initiales déférentes :

- Une solution mère du céfotaxime à 100 mg/ml ;
- Une solution mère de la ceftazidime à 2 mg/ml ;
- Une solution mère de l'aztréonam à 1mg/ml ;
- Une solution mère du céfepime à 20 mg/ml ;
- Une solution mère du céfoxitine à 20 mg/ml ;
- Une solution mère d'imipénème à 320g/ml.

Tableau N° VIII : Préparation des concentrations d'antibiotiques pour 200 ml de MH, cas de la cefotaxime

Concentration finale de l'antibiotique (µg/ml)	2	4	8	16	32	64	128
Volume de la solution mère en µl	40	80	160	320	640	1280	2560
Volume de la gélose MH en ml	200	200	200	200	200	200	200

Même procédure effectuée pour les autres antibiotiques.

Après homogénéisation, la gélose additionnée d'antibiotique est coulée sur boîtes, puis séchée à l'étuve à 37°C.

On prélève quelques colonies et on prépare une suspension bactérienne équivalente à 0.5 McFarland (10^8 bactéries/ml), on réalise une dilution de 10^{-2} de cette suspension, puis 10 μ l sont déposés en spot (soit un inoculum de 10^4 UFC/spot). Les boîtes sont incubées à 37°C/24H.

La concentration minimale inhibitrice correspond à la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber toute croissance visible à l'œil nu.

➤ **L'analyse statistique**

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide des logiciels XSTAT v 2011.4. De manière générale, le risque (α) était fixé à 0,05 pour l'ensemble des tests. On a utilisé le test du Chi-2, éventuellement corrigé selon *Yates*, et le test de probabilité exact de Fisher en cas d'effectifs théoriques insuffisants pour l'analyse comparative des résultats. Les différences sont considérées significatives pour *p valeur* inférieure à 0,05.

Résultats et discussion

I. Prélèvements

Durant la période stage de 08 mois : Novembre 2010-Juin 2011, 5197 prélèvements sont recueillis, dont **58,03%** (3016/5197) des prélèvements issus des patients non hospitalisés et **41,97%** (2181/5197) des prélèvements issus des patients hospitalisés.

Le taux le plus élevé est représenté par des prélèvements urinaires **52.03 %** (2704/5197), suivi par les prélèvements de LCR avec **17.49 %** (909/5197), la figure suivante représente les différents taux.

II. Isolement et identification des souches

509 souches sont isolées et identifiées, dont **90,37%** (460/509) sont des entérobactéries, **7,86%** (40/509) sont des *P. aeruginosa* et **1,77%** (9/509) sont des *A. baumannii*, la figure ci-dessous montre la répartition des différents groupes bactériens.

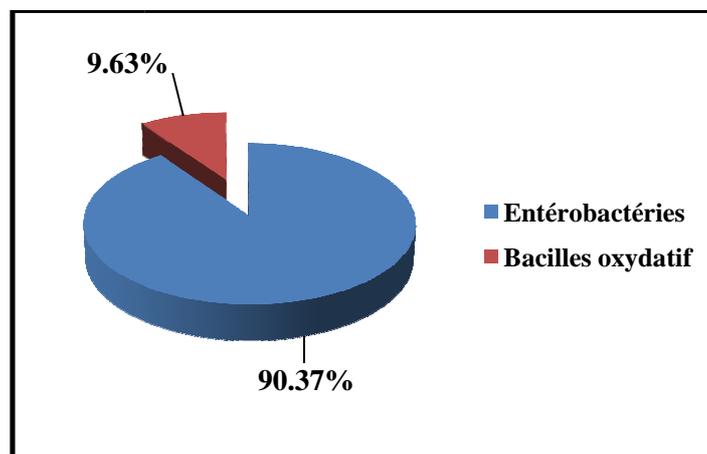


Figure 2: Répartition des souches par groupe bactérien

II.1 Répartition des souches par espèces

D'après le tableau ci-dessous, *E. coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux de **52.06%**, suivi par *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* avec des taux de **16.11%** et **7.86%** respectivement.

Tableau N° IX: Répartition des souches par espèces

Espèce	Nombre	Taux
<i>E. coli</i>	265	52.06%
<i>K. pneumoniae</i>	82	16.11%
<i>P. aeruginosa</i>	40	7.86%
<i>P. mirabilis</i>	27	5.30%
<i>E. cloacae</i>	20	3.93%
<i>Ser. marcescens</i>	18	3.54%
<i>Sal. typhimurium</i>	17	3.34%
<i>A. baumannii</i>	9	1.77%
<i>Sal. enteritidis</i>	6	1.18%
<i>Sal. haifa</i>	6	1.18%
<i>M. morgani</i>	4	0.79%
<i>K. oxytoca</i>	3	0.59%
<i>Sal. hadar</i>	3	0.59%
<i>Ser. liquifaciens</i>	3	0.59%
<i>P. vulgaris</i>	2	0.39%
<i>Sal. Kentucky</i>	1	0.20%
<i>Sh. dysenteriae</i>	1	0.20%
<i>Sh. sonnei</i>	1	0.20%
<i>C. freundii</i>	1	0.20%

II.2 Répartition des souches par service

Nous avons isolé **53.44%** (272/509) souches chez les patients non hospitalisés et **46.56%** (237/509) chez les patients hospitalisés.

Parmi les souches isolées en milieu hospitalier, le service de pédiatrie occupe la première place avec **38.51%** (196/509) des souches isolées, suivi par **4.13%** (21/509) en maternité, la figure suivante montre les différents taux.

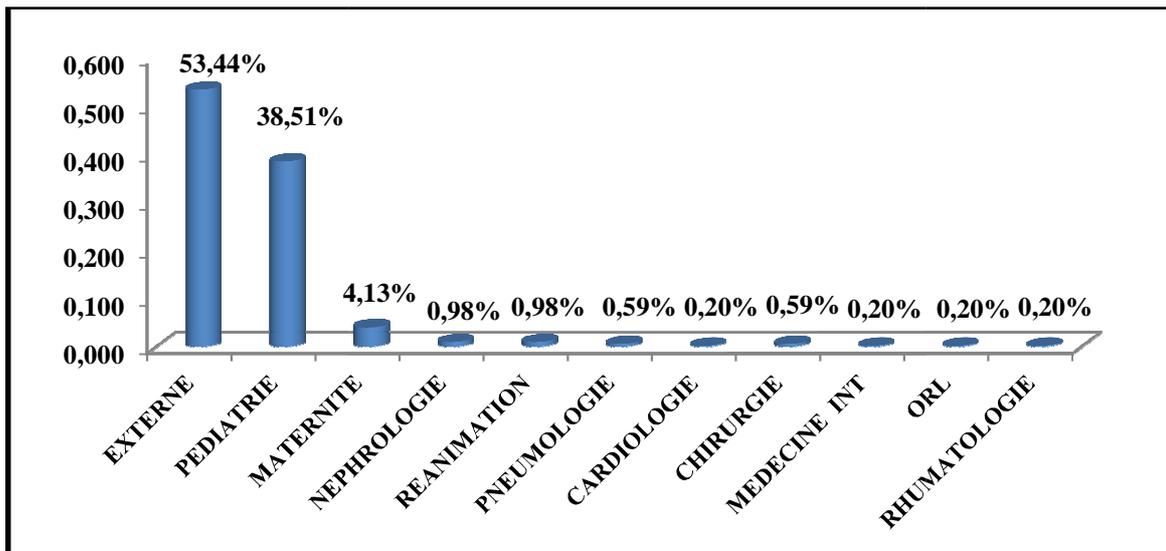


Figure 3: Répartition des souches par services

II.3 Répartition des souches selon la nature de prélèvement

La figure 5 montre que **59.53%**(303/509) des souches sont isolées des urines et **26.13%**(133/509) sont isolées des pus, un même taux de 6,88% à été isolées du sang et les selles. Uniquement (3/509) sont isolées dans les LCR avec un taux de **0.59%**.

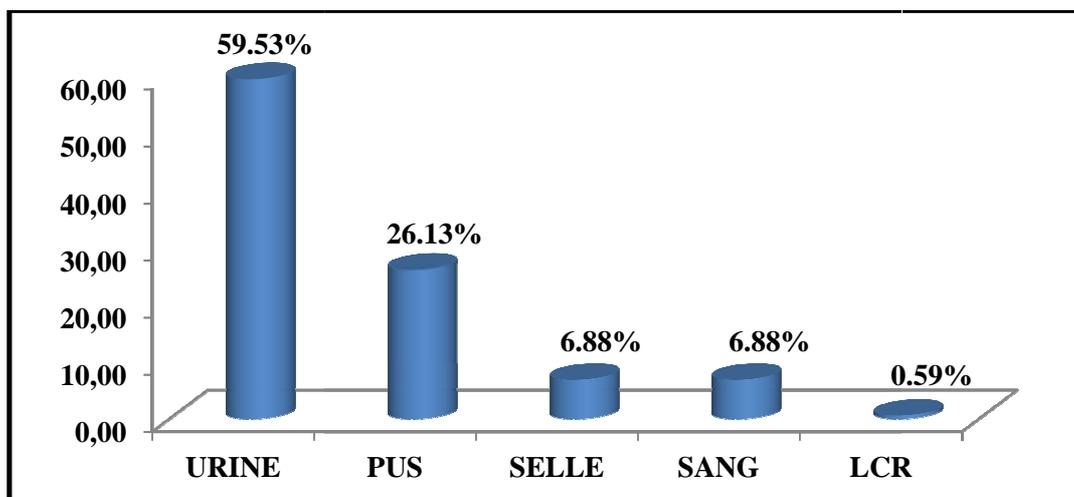


Figure 4: Répartition des souches par nature de prélèvements

II.4 Répartition des souches par sexe

Nos résultats montre une prédominance des souches isolées chez les patients du sexe féminin avec **64.24%** (327/509) contre **35.76%** (182/509) des souches sont isolées chez les patients du sexe masculin.

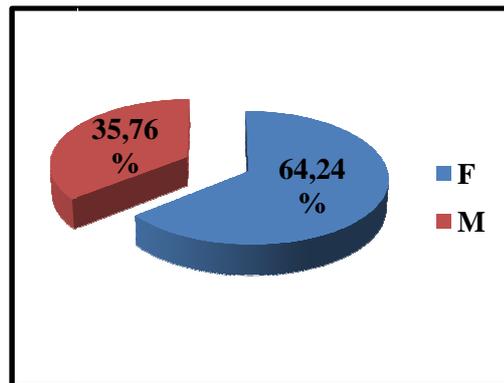


Figure 5: Répartition des souches par sexe

Le sex-ratio femme/homme = $327/182 = 1,79$. Il y'a donc presque deux fois plus de patient du sexe féminin que de patient du sexe masculin.

II.5 Répartition des souches par âge

La figure 6 montre que les taux d'isolement les plus élevés sont observés dans les catégories d'âge de 1J -2 ans et >2-18 ans avec **25.93 %**(132/509) et **45.78%** (233/509) respectivement.

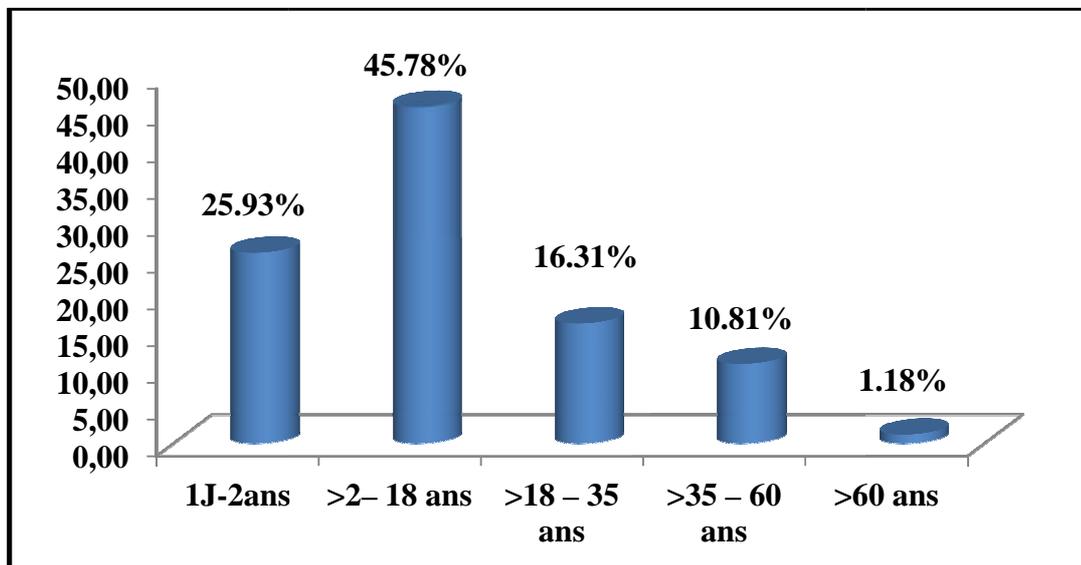


Figure 6: Répartition des souches par catégories d'âge

III. Résistance des souches aux β -lactamines

Selon les résultats des antibiogrammes, **12,18%** (62/509) souches sont retrouvées résistantes aux β -lactamines à large spectre (C3G, C4G, carbapénèmes), dont **48** souches sont des entérobactéries, **8** sont des *A. baumannii* et **6** sont des *P. aeruginosa*.

III.1 Répartition des souches résistantes par espèces

Les différents taux de résistance aux β -lactamines testés (CTX, CAZ, FEP, IMP) sont donnés dans le tableau ci-dessous.

Parmi les entérobactéries *K. pneumoniae* est caractérisée par le taux le plus élevé de résistance **39.02%** (32/82), suivi *M. morgani*, *E. cloacae* et *Sal. typhimurium* avec **25%**, **20%** et **11.76%** respectivement. Les autres espèces présentent des taux d'isolement faibles. Le tableau ci-dessous montre les différents taux de résistance :

Tableau N° X: Taux résistance par espèces

Souche	Souches isolées	Souches résistantes	Taux
<i>A. baumannii</i>	9	8	8/9 EF
<i>K. pneumoniae</i>	82	32	39.02%
<i>M. morgani</i>	4	1	1/4 EF
<i>E. cloacae</i>	20	4	20%
<i>P. aeruginosa</i>	40	6	15%
<i>Sal. typhimurium</i>	17	2	11.76%
<i>Ser. marcescens</i>	18	1	5.56%
<i>P. mirabilis</i>	27	1	3.70%
<i>E. coli</i>	265	7	2.64%

EF : échantillon faible

Selon le test statistique ; le test exact de Fischer, montre une différence significative élevée chez les souches *A. baumannii* et *K. pneumoniae*, *E. coli* montre une différence significative faible par rapport à ces dernières. Pour les autres espèces on n'a pas observé de différence significative. Le tableau dessous montre les différences significatives au seuil $\alpha=5\%$, effectué par le test de Chi-deux.

Tableau N° XI: Significativité des souches par case (Test exact de Fisher) :

	Souches résistantes	Souches sensibles
<i>A. baumannii</i>	>	<
<i>K. pneumoniae</i>	>	<
<i>M. organii</i>	>	<
<i>E. cloacae</i>	>	<
<i>P. aeruginosa</i>	>	<
<i>Sal. typhimurium</i>	<	>
<i>Ser. marcescens</i>	<	>
<i>P. mirabilis</i>	<	>
<i>E. coli</i>	>	<

Les valeurs affichées en gras sont significatives au seuil $\alpha=0.05$

III.2 Réparation des souches résistantes par service

Selon le tableau 11, la résistance en pédiatrie est de **23,47 %** (46/196). 4/5 des souches isolées en réanimation sont des bacilles à Gram négatif non fermentaires (2 *P. aeruginosa* et 2 *A. baumannii*).

Tableau N° XII: Taux de résistance par service

REA : Réanimation, CHIR : Chirurgie, NEPHR : Néphrologie, PED : Pédiatrie, MAT : Maternité,

	REA	CHIR	NEPHR	PED	MAT	EXT
Nombre de souches isolées	5	3	5	196	21	272
Nombre de souches résistantes	5	2	3	46	4	2
Taux	5/5 EF	2/3 EF	3/5 EF	23,47%	19,05%	0,74%

EXT : Externe, EF : échantillon faible.

Selon le test statistique ; le test exact de Fischer, montre que la différence entre le nombre des souches résistantes isolées est très significative dans le service de réanimation et dans le service de pédiatrie.

Tableau N° XIII: Significativité par service (Test exact de Fisher) :

	souches sensibles	souches résistantes
REA	<	<
CHIR	<	>
NEPHR	<	>
PED	<	<
MAT	<	>
EXT	<	<

Les valeurs affichées en gras sont significatives au seuil $\alpha=0.05$

III.3 Répartition des souches résistantes par nature de prélèvement

La figure 7 donne les taux de résistance retrouvés pour chaque type de prélèvement. (11/35) **31,43 %** des souches sont isolées dans du sang, **21,05%** (28/133) à partir des pus, **6,93%** (21/303) dans les urines et **5,71 %** (2/35) dans les selles. Aucune souche résistante n'est isolée à partir du LCR.

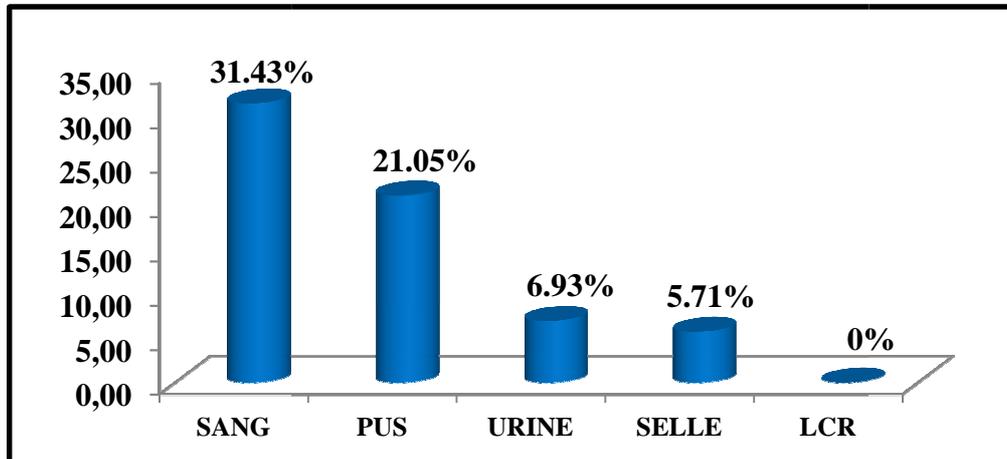


Figure 7 : Taux de résistance par nature de prélèvement

Selon le test statistique ; le test exact de Fischer, la différence entre le nombre des souches résistantes isolées par prélèvement est significative dans du sang et pus, une différence significative faible est présentée par les urine.

Tableau N° XIV : Significativité par prélèvement (Test exact de Fisher)

	souches résistantes	souches sensibles
SANG	>	<
PUS	>	<
URINE	>	<
SELLE	<	>
LCR	<	>

Les valeurs affichées en gras sont significatives au seuil alpha=0.05

III.4 Répartition des souches résistantes par catégorie d'âge

Des variant taux de résistance obtenus pour les différentes catégories d'âge, le taux plus élevé chez les enfants inférieur à 02ans avec **23.48%** (31/132). (3/6) des souches sont isolées chez les patients âgés de plus de 60 ans. Les enfants et les patients âgés sont les plus touchés par le phénomène de résistance.

Tableau N° XV : Taux de résistance par catégorie d'âge

Age	Total souches isolées	Souches résistantes	Taux de résistance
1J-2ans	132	31	23.48%
>2– 18 ans	233	19	8.15%
>18 – 35 ans	83	6	7.23%
>35 – 60 ans	55	3	5.45%
>60 ans	6	3	3/6 EF

Selon le test statistique ; le test exact de Fischer, la différence entre le nombre des souches résistantes isolées dans la catégorie d'âge 1j-2ans est très significative, une différence significative faible est observée dans les catégories d'âge >2– 18 ans et >35 – 60 ans.

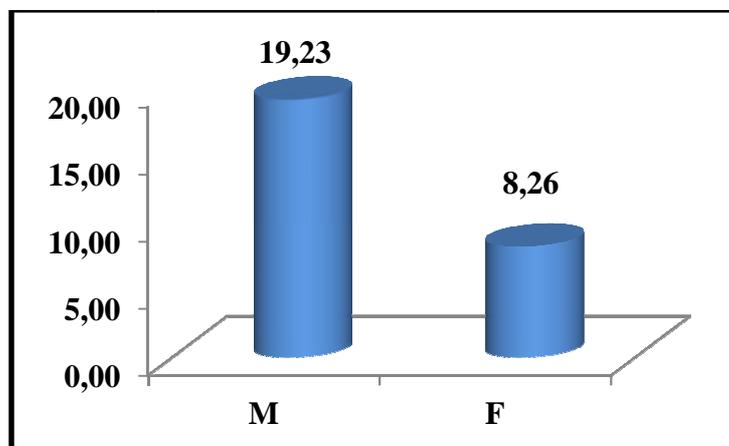
Tableau N° XVI : Significativité par âge (Test exact de Fisher)

	Souches résistantes	Souches sensibles
1J-2ans	>	<
>2– 18 ans	>	<
>18 – 35 ans	<	>
>35 – 60 ans	>	>
>60 ans	>	<

Les valeurs affichées en gras sont significatives au seuil alpha=0.05

III.5 Répartition des souches résistantes par sexe

D'après la figure ci-dessous, le taux de résistance des souches isolées chez les patients du sexe masculin est plus élevé **19,23%**(35/182) que celui obtenu chez les patients du sexe féminin **8,26%** (27/327).

**Figure 8 : Taux de résistance par sexe**

Le test de Khi-deux a montré une différence significative ($p < 0,05$) entre le taux de résistance observé chez le sexe masculin et le sexe féminin tel que le taux de résistance chez le sexe masculin est significativement supérieur à celui du sexe féminin. Dans ce cas le sexe est un facteur risque et la résistance est liée à ce dernier.

III.6 Antibiothérapie préalable

La figure 9 montre que **80.65 %**(50/62) des souches résistantes sont isolées chez des patients sous antibiothérapie à base des β -lactamines généralement des céphalosporines de 3^{ème} génération contre **19.35 %**(12/62) des patients sans antibiothérapie. Ce résultat explique la relation entre l'utilisation abusive des antibiotiques en milieu hospitalier et la dissémination des souches multirésistantes.

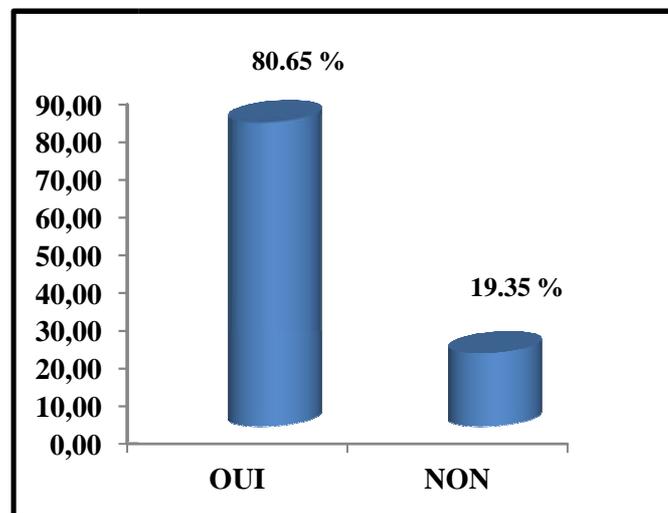


Figure 9 : Pourcentage des patients sous antibiotiques

Le test Khi-deux effectué montre une différence significative entre les proportions des souches résistantes isolées chez les patients sous antibiotiques ($p\text{-value} < 0,0001$), dans ce cas l'antibiothérapie est un facteur risque et la résistance est liée à cette dernière.

III.7 Taux de décès

La figure 10 montre que le décès des patients suite à une bactériémie aux souches multirésistantes est de **17.74 %**(11/62), le reste des patients ont bien évolué.

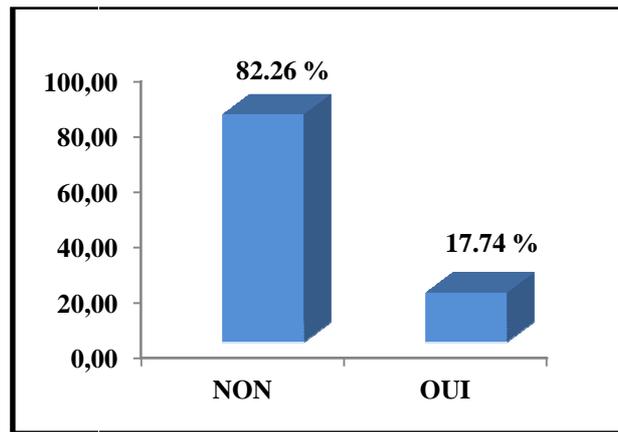


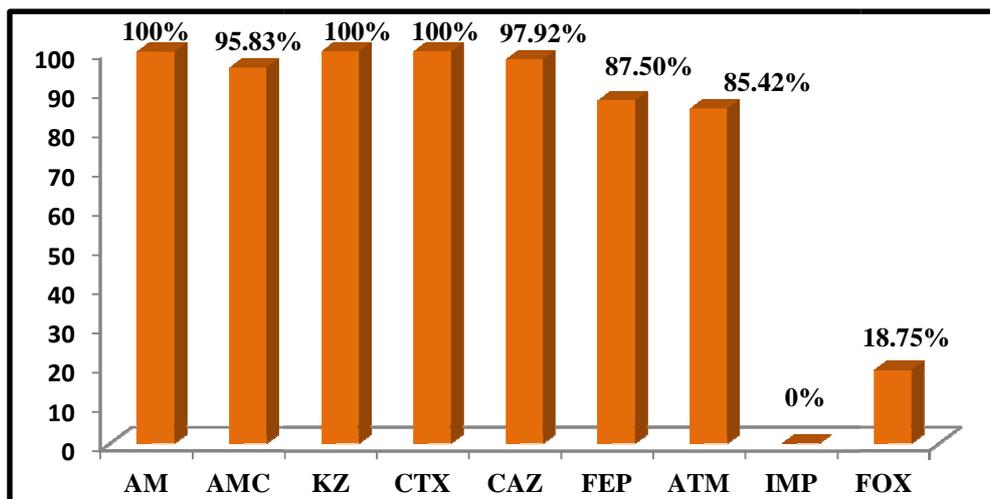
Figure 10: Taux de décès

III.8 Étude de la résistance des entérobactéries

48 des souches d'entérobactéries sont résistantes avec un taux de **10,43%** (48/460).

➤ Résistance aux β -lactamines

Les résultats obtenus à partir des antibiogrammes standards et diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenues sont montrés dans l'annexe II. Les taux de résistance pour cette famille d'antibiotique sont représentés dans la figure 11.

Figure 11: Taux de résistance vis-à-vis aux β -lactamines

D'après la figure 12, le taux de résistance reste élevé allant jusqu'à **100%** la cefotaxime, **97,92%** pour la ceftazidime et **85,42%** pour les monobactames, à noter aussi un taux de résistance important aux C4G avec **87,50%**. Aucune résistance n'a été observée vis-à-vis de l'imipénème.

On note une résistance importante vis-à-vis de l'AMC (amoxicilline + acide clavulanique) qui est de **95%**, l'acide clavulanique restaure l'activité des β -lactamines avec lesquelles elles sont combinées chez les souches productrices des β -lactamases, contrairement aux souches productrices uniquement des céphalosporinases.

➤ Résistance aux autres antibiotiques

La résistance des souches d'entérobactéries aux autres familles d'antibiotique est donnée dans la figure 12. On note que **89,58%** des souches sont résistantes au triméthoprim-sulfaméthoxazole, la résistance aux aminosides est représentée par **75%** à la gentamicine et **33,33%** à l'amikacine. **41,67%** et **33,33%** des souches sont respectivement résistantes à l'acide nalidixique et ciprofloxacine (fluoroquinolones). **31,25%** et **27,08%** des souches sont respectivement résistantes au furanes et au chloramphénicol. Aucune résistance des souches d'entérobactéries n'a été observée vis-à-vis de la colistine à l'exception de groupe *Proteus* qui sont naturellement résistants à cet antibiotique.

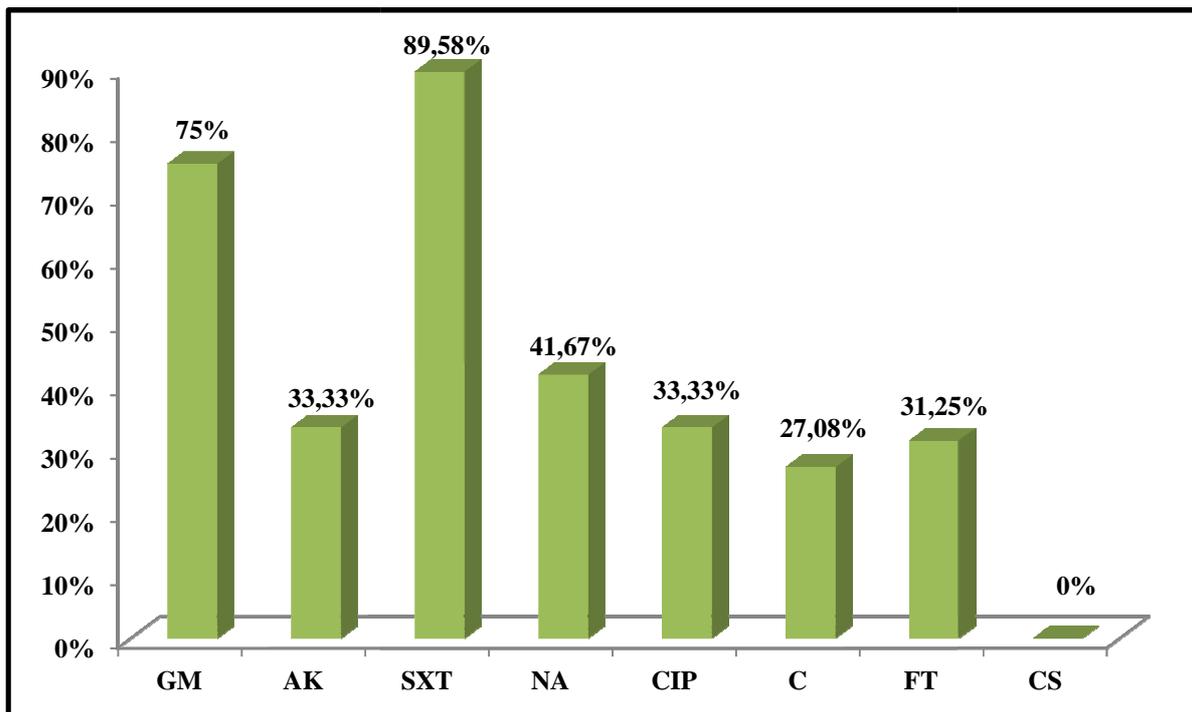


Figure 12: Taux de résistance vis-à-vis des autres antibiotiques

III.9 Étude de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa*

6/40 souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été retrouvées résistantes (vis-à-vis du CAZ et/ou IMP) soit un taux de **15%**.

➤ Résistance aux β -lactamines

Le tableau montre les différents taux de résistance aux β -lactamines, on remarque que (5/6) des souches sont résistantes à l'imipénème.

Les phénotypes probables de la résistance des souches de *P. aeruginosa* à l'imipénème sont ; soit l'hyperproduction de la céphalosporinase naturelle associée à une altération d'imperméabilité ou une perte de porines oprD2

Tableau N° XVII : Taux de résistance des souches de *P. aeruginosa vis-à-vis* des β -lactamines

ATB	TIC	TCC	PIP	CAZ	FEF	ATM	IMP
Nombre	3	3	3	3	3	3	5
Taux	3/6 EF	5/6 EF					

➤ **Résistance aux autres antibiotiques**

On note une résistance faible aux aminosides. Aucune résistance n'a été observée *vis-à-vis* de la ciprofloxacine et la colistine.

Tableau N° XVIII: Taux de résistance des souches de *P. aeruginosa vis-à-vis* des autres antibiotiques

ATB	GM	AK	TOB	NET	CIP	CS
Nombre	1	1	1	1	0	0
Taux	1/6 EF	1/6 EF	1/6 EF	1/6 EF	0/6 EF	0/6 EF

III.10 Étude de la résistance des souches d'*A. baumannii*

(8/9) des souches d'*A. baumannii* sont résistantes

➤ **Résistance aux β -lactamines**

On note que la totalité des souches sont résistantes C3G, C4G et monobactames, 3 souches sont résistantes à l'imipénème. Le phénotype probable de la résistance à cette molécule est la production des carbapénèmases.

Tableau N° XIX: Taux de résistance des souches de d'*A. baumannii vis-à-vis* des β -lactamines

ATB	TIC	TCC	PIP	CAZ	FEF	ATM	IMP
Nombre	7	7	5	8	8	8	3
Taux	7/8 EF	7/8 EF	5/8 EF	8/8 EF	8/8 EF	8/8 EF	3/8 EF

➤ **Résistance aux autres antibiotiques**

Le tableau ci-dessous montre une résistance faible aux aminosides à l'exception de l'amikacine, aucune résistance n'a été observée *vis-à-vis* de la netilmycine. La colistine reste active sur toutes les souches.

Tableau N° XX : Taux de résistance des souches de d'A. *baumannii* vis-à-vis des autres

ATB	GM	AK	TOB	NET	SXT	CIP	RIF	DOX	CS
Nombre	4	6	1	0	7	5	5	3	0
Taux	4/8	6/8	1/8	0/8	7/8	5/8	5/8	3/8	0/8
	EF								

antibiotiques

III.11 Analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines

➤ DD-test

Le DD-test était positif avec 43 souches sur 62 (41 entérobactéries et 2 souches d'A. *baumannii* qui ont présenté une synergie vis-à-vis de la céfepime). Pour les souches de *P. aeruginosa* aucune image de synergie n'a été observée, les figures ci-après montrent des exemples de DD-test.

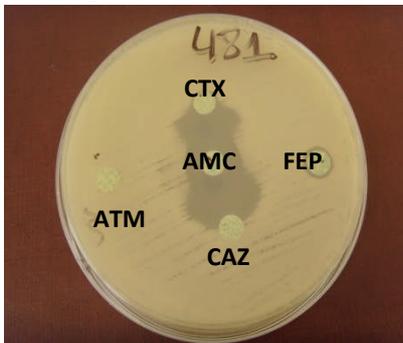


Figure 13 : *K. pneumoniae* CHU42 productrice de BLSE

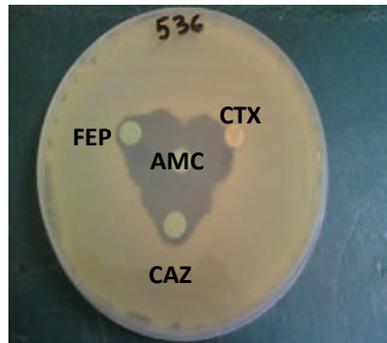


Figure 14 : *E. coli* CHU 12 productrice de BLSE

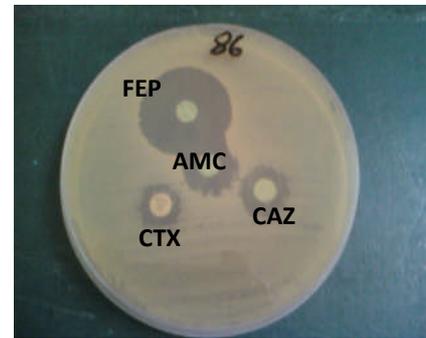


Figure 15 : *E. cloacae* CHU01 non productrice de BLSE

➤ Double disque

Pour les souches qui ne présentent pas une image de synergie, un double disque est effectué pour confirmer la production d'une BLSE qui peut être masquée par un autre mécanisme de résistance, la figure suivante montre un double disque positif.

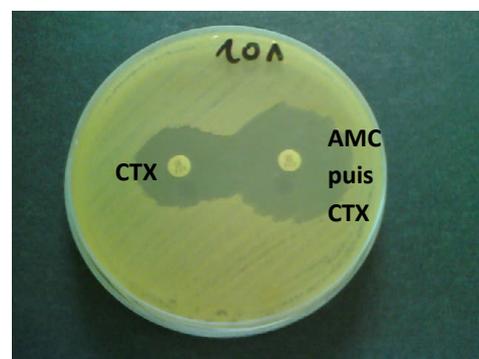


Figure 16: Double disque positif

➤ **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) tel que *E. coli*, *Sal. typhimurium* et *K. pneumoniae*, sont testées une deuxième fois par addition de cloxacilline dans la gélose Mueller Hinton.

Les résultats de ce test ont montrés plusieurs cas à savoir hyperproduction de céphalosporinase naturelle, céphalosporinases plasmidique, et association BLSE plus céphalosporinase (*E. coli*)

Les figures 17, 18 montrent les différents cas.

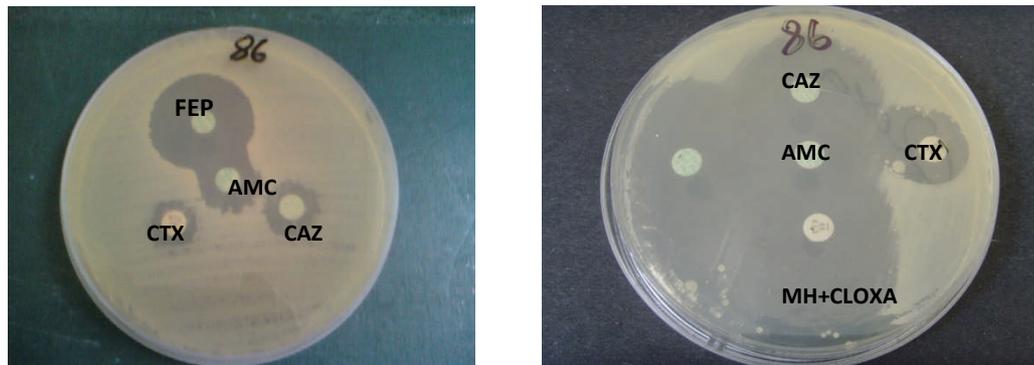


Figure 17: Hyperproduction de céphalosporinase naturelle chez *E. cloacae* CHU 01

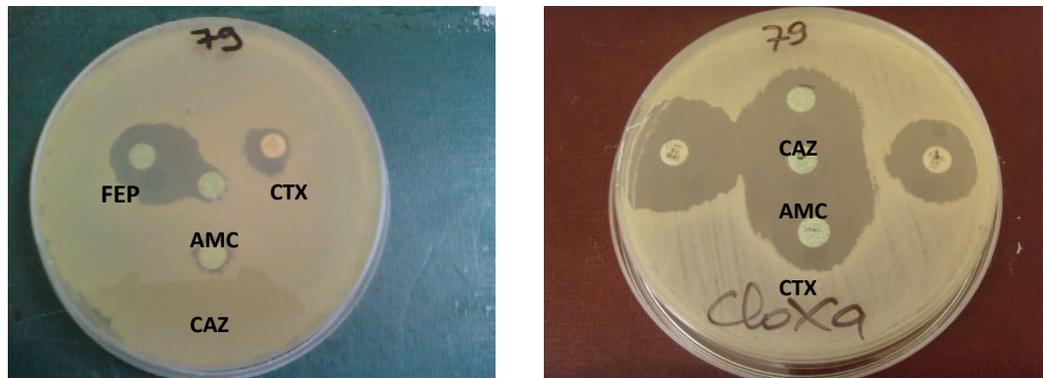


Figure 18: *E. coli* CHU 24 productrice d'une BLSE plus céphalosporinase

Ces association BLSE plus céphalosporinase restent rare, dans notre étude 03 cas seulement ont été identifiées.

➤ **Production de carbapénèmases**

• **Test de Hodge**

L'image de trèfle était bien visible avec les 3 souches d'*A. baumannii* IMP-R testées ce qui indique que ces dernières produisent une carbapénèmase, par contre aucune image de trèfle n'a été observée avec les souches de *P. aeruginosa*. Voir les figures ci-après :

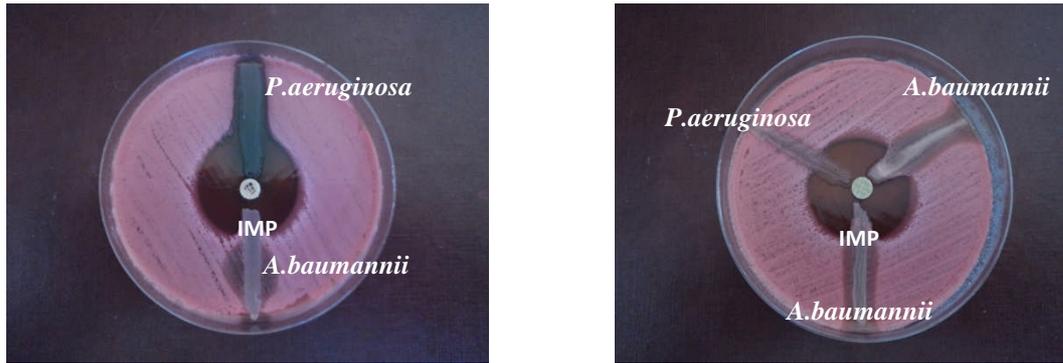


Figure 19: Test de Hodge

➤ **Production des métallo- β -lactamases**

Le test à l'EDTA a montré que les 03 souches d'*A. baumannii* sont productrices de métallo- β -lactamase (métallo-carbapénèmases), la figure suivante montre l'image de synergie entre EDTA et l'imipenème



Figure 20: Les 03 *A. baumannii* produisant des métallo-carbapénèmases

III.12 Dédution des phénotypes de résistance aux β -lactamines

La déduction des phénotypes de résistance aux β -lactamines testées est basée sur les critères suivants :

- La résistance naturelle de la souche ;
- Résistance au CTX et/ou CAZ (résistance aux deux molécules ou à une seule molécule seulement) ;
- Résistance aux C4G, Aztreonam et l'Imipenème ;
- Présence ou absence d'image de synergie sur gélose MH.
- Présence ou absence d'image de synergie sur gélose MH +cloxacilline,
- Test de Hodge et de l'EDTA.
- Les résultats des CMI sur MH+NaCl

Les phénotypes probables sont donnés dans les tableaux suivants :

Tableau N° XXI : Phénotypes de résistance des souches d'entérobactérie

Phénotype probable	Nombre	Taux
CTX-M	34	70.83%
Hyperproduction du Case	4	8.33%
CTX-M + Case plasmidique	3	6.25%
Ceftazidimase	3	6.25%
CTX-M + Imperméabilité	2	4.17%
CTX-M + Hyperproduction du Case	1	2.08%
Case plasmidique	1	2.08%

Tableau N° XXII : Phénotypes de résistance des souches de *P. aeruginosa*

Phénotype probable	Nombre	Taux
Perte de porine oprD2	3	3/6 EF
Hyperproduction du Case + Imperméabilité	2	2/6 EF
Hyperproduction du Case	1	1/6 EF

Tableau N° XXII : Phénotypes de résistance des souches d'*A. baumannii*

Phénotype probable	Nombre	Taux
Métallo- β -lactamases + Oxacillinases	3	3/8 EF
BLSE	3	3/8 EF
Hyperproduction du Case	1	1/8 EF
Oxacillinase	1	1/8 EF

Chez les entérobactéries, plus part des souches sont productrice des BLSE de type CTX-M (70.83%). La résistance des souches *P. aeruginosa* et d'*A. baumannii* à l'imipénème est due à la de perte de porine oprD2 seule ou associée à une hyperproduction pour le premier et la production des métallo- β -lactamases pour le deuxième.

IV. Transfert par conjugaison

Le transfert par conjugaison a été réalisé pour souches CHU 10, CHU 11, CHU 20, CHU 29, CHU 36, CHU 41 et CHU45.

Sur la gélose de sélection, aucune croissance n'a été observée Pour les souches CHU 10, CHU 11, CHU 20, CHU 36 CHU 41, CHU45. Il n'y a eu donc pas de transfert ni du gène *bla*_{CTX-M}, *bla*_{AmpC} et *bla*_{CAR}.

Des transconjugants de la souche CHU 29 (*K. pneumoniae*) qui est caractérisée par la production probablement d'une BLSE de type ceftazidimase ont été obtenus sur la gélose de sélection, ce qui confirme le transfert du gène *bla*_{CAZ}.

Les résultats d'antibiogramme réalisé vis-à-vis du transconjugant TC-29 et de la souche donatrice CHU 29 sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N° XXIV : Diamètres des zones d'inhibition obtenus pour les transconjugants

souche	Antibiotique			
	CTX	CAZ	FEP	ATM
CHU 29 <i>K. pneumoniae</i>	I/19	R/14	S/28	R/14
TC-29 <i>E. coli</i>	I/18	R/6	S/26	R/16
C600 <i>E. coli</i> (T)	S/32	S/35	S/44	S/40

TC : transconjugant, T : Témoin, R : résistant, I : Intermédiaire, S : Sensible

V. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Les résultats de la détermination des concentrations minimales inhibitrices montrent une variabilité entre les souches et entre leurs réponses aux différents antibiotiques. Les résultats des CMI sont rapportés dans les tableaux suivants : les valeurs sont en µg/ml

Tableau N° XXV: Résultats des CMI des *A. baumannii*

Code	Souches	IMP+Cloxa	IMP+CLOXA +NaCl	CAZ+Cloxa	CAZ+Cloxa +NaCl	ATM+Cloxa	ATM+CLOXA +NaCl
CHU10	<i>A. baumannii</i>	64	32	16	4	> 128	32
CHU11	<i>A. baumannii</i>	64	32	16	8	> 128	64
CHU36	<i>A. baumannii</i>	32	16	16	4	> 128	64
CHU17	<i>A. baumannii</i>	ND	ND	32	4	64	32
CHU30	<i>A. baumannii</i>	ND	ND	< 4	< 4	32	32

D'après ce tableau XXV, la CMI à l'imipénème se montre élevée atteignant les 64 µg/ml pour toutes les souches imipénème R, l'ajout de l'inhibiteur NaCl à un effet sur la diminution de la concentration, ce qui suggère la production des oxacillinases. Les CMI à l'ATM restent élevées > 128 µg/ml avec une réduction de la valeur avec NaCl.

Tableau N° XXVI : Résultats des CMI (µg/ml) des souches d'entérobactéries résistantes à la céfoxitine

Code	Souches	FOX	FOX+Cloxa	CTX	CTX+Cloxa	FEP	FEP+Cloxa	CAZ	CAZ+Cloxa
CHU20	<i>Sal. typhimurium</i>	> 128	16	> 128	64	64	4	> 128	64
CHU24	<i>E. coli</i>	64	16	128	32	128	8	128	32
CHU41	<i>K. pneumoniae</i>	> 128	> 64	> 128	> 64	128	> 64	> 128	> 64
CHU42	<i>K. pneumoniae</i>	> 128	> 64	> 128	> 64	128	> 64	> 128	> 64
CHU43	<i>K. pneumoniae</i>	> 64	32	> 128	> 64	> 128	> 64	> 128	> 64
CHU45	<i>K. pneumoniae</i>	> 64	32	> 128	> 64	> 128	> 64	> 128	> 64

Les souches résistantes à la céfoxitine, présentent des CMI élevées *vis-à-vis* de tous les antibiotiques testés 64µg/ml pour la cefepime, > 128 µg/ml pour la céfoxitine, céfotaxime et ceftazidime. La cloxacilline réduit les concentrations chez certains antibiotiques, et pour certaines souches, par contre chez d'autres les concentrations restent élevées ce qui suggère l'association de plusieurs mécanismes de résistance

Tableau N° XXVII : Résultats des CMI des souches d'entérobactéries résistantes aux β -lactamines, aminosides et quinolones et le transconjugant

Code	Souches	CTX	FEP	CAZ	ATM
CHU02	<i>K. pneumoniae</i>	64	> 64	32	64
CHU05	<i>K. pneumoniae</i>	64	> 64	16	64
CHU06	<i>K. pneumoniae</i>	> 64	> 64	> 128	> 128
CHU08	<i>K. pneumoniae</i>	> 64	> 64	32	128
CHU12	<i>E. coli</i>	> 64	> 64	128	> 128
CHU13	<i>E. coli</i>	32	> 64	< 8	8
CHU16	<i>K. pneumoniae</i>	64	32	32	64
CHU25	<i>E. coli</i>	64	> 64	16	16
CHU31	<i>K. pneumoniae</i>	> 64	> 64	128	128
CHU33	<i>K. pneumoniae</i>	> 128	> 128	> 128	> 128
CHU29	<i>K. pneumoniae</i>	< 8	< 8	64	64
TC-29	<i>E. coli</i>	< 8	< 8	64	64

Pour ces souches les CMI sont variées allant de 8 μ g/ml jusqu'à plus de 128 μ g/ml. Les CMI de transconjugant TC-29 obtenues sont < 8 μ g/ml pour la céfotaxime et la cefepime et 64 μ g/ml pour la ceftazidime et l'aztreonam, même résultats obtenus avec la souche donatrice *K. pneumoniae* CHU 29.

VI. Discussion générale

Les bacilles à Gram négatif, dont les entérobactéries restent les bactéries les plus isolées dans les infections, particulièrement dans les pays en voie de développement, dont on fait partie

Le traitement de choix pour ces infections reste les β -lactamines à large spectre, dont les céphalosporines de 3^{ème}, 4^{ème} génération et les carbapénèmes.

L'habitat naturel de la plus part des entérobactéries est le tube digestif, qui reste le pourvoyeur des différentes infections, directement ou indirectement par les mains, le matériels hospitalier contaminés et par les aliments (Denton, 2007 ; Sekhsokh et *al.*, 2008).

Durant notre étude, 5197 prélèvements sont recueillis dont 58,03% des prélèvements provenant du milieu externe contre 49,56% provenant de milieu hospitalier, contrairement à ce qui est rapporté en Tunisie en 2008 ; 65% des isolats provenaient de malades hospitalisés (Mkaouar et *al.*, 2008). les prélèvements urinaire occupe la première place avec 52,03%, une étude réalisée en France en 2000, montre que 91,1% des prélèvements communautaires sont des prélèvements urinaires (Péan et *al.*, 2001). En effet, ce résultat est expliqué par le fait que l'infection urinaire est l'une des infections communautaires les plus fréquentes notamment chez les femmes (Sekhsokh et *al.*, 2008).

Pendant l'étude, 509 souches sont isolées, dont 46,56% sont isolées en milieu hospitalier. La plus part des souches isolées chez les patients hospitalisés, sont issues de service de pédiatrie avec 38,51%, Mkaouar et *al.*, 2008 ont rapporté 34% dans les services médicaux et 10,5% en pédiatrie. 5 souches ont été isolées en réanimation, dont 2 souches d'*A. baumannii* et 2 souches de *P. aeruginosa*. Selon Elouennass et *al.*, 2003 et Ben Abdallah et *al.*, 2008 ; ces germes sont les plus incriminés dans ce service. Dans notre étude la prédominance des souches isolées en pédiatrie peut être expliquée par l'activité du laboratoire qui est dédiée aux services de pédiatrie : générale et chirurgie.

Le site urinaire est le principal site d'infection, 59,53% des isolats proviennent des urines et 26,13% des pus. La flore digestive est le principal réservoir d'entérobactéries responsables d'infection urinaires. En Tunisie, un taux de 60% des souches isolées dans les urine, est rapporté par Mkaouar et *al.*, 2008.

Le sex-ratio femme/homme est de 2. Des résultats différents ont été rapportés par De Larabi et *al.* (Larabi et *al.*, 2003). Les souches provenaient essentiellement de sujets féminins (64,24%), cela peut s'expliquer par le fait que les prélèvements d'origine urogénitale étaient très largement majoritaires. En effet, les infections urinaires sont beaucoup plus fréquentes

chez la femme que chez l'homme, cela s'explique par le fait que les glandes périurétrales n'ont pas d'activité antibactérienne (contrairement au liquide prostatique). Aussi, l'infection chez la femme est favorisée par l'osmolarité faible des urines en particulier durant la grossesse (Saighi *et al.*, 2004).

D'après nos résultats les enfants sont plus touchés par les infections, et que le taux d'infection chez les enfants âgés moins de 2 ans (25,93%) est moins faible que celui des enfants âgés plus de 2 ans (45,78%), Campeotto *et al.* ont rapporté que chez les nouveaux nés sont colonisés particulièrement par *S. epidermidis*, cette bactérie est reconnue comme agent pathogène le plus souvent responsable d'infections nosocomiales en unité de soins intensifs néonatale (66,1 %) et que le taux d'infection par des BGN est faible (9,8 %) (Campeotto *et al.*, 2004). Selon Hamza *et al.*, les principaux facteurs de risque dans l'acquisition des infections nosocomiales en pédiatrie sont le cathéter vasculaire périphérique, malnutrition, immunodépression, ventilation mécanique et antibiothérapie (Hamza *et al.*, 2008). Nos résultats collent avec ce qui rapporté par Weber *et al.*, 2000.

On note que *E. coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec 52,6%, notamment dans les urines (52,06%) suivi par *K. pneumoniae* avec 16,11%. En effet, *E. coli* représente 60 à 80% des infections urinaires communautaires (Caracciolo *et al.*, 2011). En Tunisie *E. coli* occupe aussi la première place avec 81,7% suivi par *K. pneumoniae* avec 3,7% (Péan *et al.*, 2001).

Selon Lahlou Amine *et al.*, 2009, *Enterobacter sp*, *Citrobacter sp* et *Proteus indole* positif sont des bactéries responsables surtout d'infections nosocomiales (Lahlou Amine *et al.*, 2009). Ils sont incriminés en ambulatoire suite à une hospitalisation récente ou à une prise d'antibiotiques à large spectre (Djennane *et al.*, 2009).

P. aeruginosa et *A. baumannii* infectent préférentiellement les sujets hospitalisés dans les unités de soins intensifs et de chirurgie, services où le risque de colonisation et d'infection est important vu le terrain particulier des patients et la fréquence des manœuvres invasives (Elouennass *et al.*, 2003 ; Ben Abdallah *et al.*, 2008). Selon ces derniers auteurs; *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sont isolées dans les services de réanimation avec 33,5 % et 67 % respectivement, et sont isolées essentiellement de pus 52,9 % et des prélèvements broncho-pulmonaires avec 30%.

L'étude de la sensibilité des bacilles à Gram négatif isolés aux β -lactamines testées (C3G, C4G, carbapénèmes), montre 12,18% (62/509) de résistance, des taux plus élevés, de 71% et 70,8% ont été rapporté par Ben Romdhane *et al.* et Thabet *et al.* en réalisant des études sur les bacilles à Gram négatif multirésistantes dans des hôpitaux Tunisiens (Ben Romdhane *et al.*, 2007 ; Thabet *et al.*, 2008).

Parmi les 62 souches dite bactéries multi résistantes, 46 sont isolées en pédiatrie avec 23,47%. Les 5 souches isolées en réanimation sont toutes résistantes, ces dernières sont des entérobactéries (1), *P. aeruginosa* (2) et *A. baumannii* (2). Selon Mkaouar *et al.*, 2008, un taux élevé de souches résistantes a été observé dans les unités de soins intensifs (48%), de pédiatrie (25%). Les patients admis dans ces services sont particulièrement vulnérables aux infections par des bactéries résistantes à cause de leurs défenses immunitaires affaiblies et de leur exposition aux antibiotiques à large spectre (Mkaouar *et al.*, 2008).

Le sang représente le principal réservoir des BMR avec 31,43%. Comme relevé dans le bilan de surveillance de la résistance des bactéries en 2009, en Algérie, les entérobactéries et les *P. aeruginosa*, isolées dans les hémocultures, sont caractérisées par des taux élevés de résistance (Benslimani, 2009). Contrairement aux autres études, qui montrent que les BMR sont isolées principalement dans les urines (Belmonte *et al.*, 2010 ; Mayoral *et al.*, 2010), Mkaouar *et al.*, 2008 ont noté que la plupart des souches résistantes ont été isolées dans les liquide de ponction, les prélèvements pulmonaires, corps étrangers et le liquide céphalorachidien avec 51%, 47%, 45% et 42% respectivement. La majorité des liquides de ponction provenaient de malades hospitalisés dans les unités de soin intensifs, qui sont le plus souvent porteurs de dispositifs invasifs (Mkaouar *et al.*, 2008).

D'après nos résultats, des patients du sexe masculin, les enfants inférieur à 2 ans, sont les plus touchés par le phénomène de résistance (Mkaouar *et al.*, 2008). L'âge et le sexe sont des facteurs de risque dans l'acquisition de la multirésistantes. Ces résultats ont été approuvés par une étude effectuée en Roumanie, réalisée par Baditiou *et al.* sur la détermination des facteurs de risque lié à l'acquisition des souches d'entérobactéries multirésistantes en milieu hospitalier, dont ils ont démontré que chez 100 patients hospitalisés infectés par des souches d'entérobactéries multirésistantes, le nombre des souches isolées chez le sexe masculin est égale à 1,8 (presque 2) fois le nombre isolées chez le sexe féminin (Baditiou *et al.*, 2009). Pour les nourrissons du sexe masculin, il est connu dans nos coutumes que les garçons sont, d'une manière générale, circoncis à partir de l'âge de deux ans, sauf en cas des infections urinaires récidives. Une étude cité par Bréaud et Guys, en 2005, à démontré l'effet bénéfique de la circoncision sur les infections urinaires hautes chez l'enfant

durant les premières années de vie. Cette étude a rapporté une diminution d'un dixième des taux d'infections urinaires aux bactéries résistantes chez les garçons circoncis (0,1%) par rapport aux garçons non circoncis (1%) (Bréaud et Guys, 2005).

Il existe d'autres facteurs de risques telles que l'hospitalisation pour un motif infectieux, l'antibiothérapie préalable (aminopénicillines, céphalosporines et fluoroquinolones), le diabète et un âge supérieur à 60 ans (Péan et *al.*, 2001 ; D'escrivan et *al.*, 2004 ; Barbe et *al.*, 2010).

Pendant l'étude, on a observé des consommations importantes en antibiotiques à large spectre ; 80,65% des patients étaient sous antibiotiques. Cette consommation participe probablement à l'émergence des BMR. De plus, l'augmentation actuelle des entérobactéries multirésistantes avec BLSE entretient une augmentation continue de la prescription d'IMP. Cette augmentation a pour conséquences l'apparition des bactéries résistance à toutes les β -lactamines y compris les carbapénèmes notamment l'*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*. Sur le plan écologique, la pression de sélection induite par une consommation importante en antibiotiques à large spectre est un facteur de risque identifié (Belmonte et *al.*, 2010).

Dans notre étude, le taux de résistance des entérobactéries aux C3G observé est de 10,43 % (48/460), ce dernier est élevé par rapport à ce qui est rapporté dans les hôpitaux de Bejaia en Algérie 5,8% (Touati et *al.* 2006). Une revue de la littérature est réalisée par Mkaouar et *al.*, 2008, donne les taux de résistance aux C3G dans des différents pays.

Tableau N° XXVIII : Comparaison des taux de résistance des entérobactéries.

Pays	Taux de résistance	Référence
Algérie (nos résultats)	10,43%	/
Algérie	5,8%	(Touati et <i>al.</i> 2006)
Tunisie	15%	(Mkaouar et <i>al.</i> , 2008).
Australie	2%	
France	6%	
Inde	34%	
Chine	32%	

K. pneumoniae est caractérisée par le taux le plus élevé de résistance 39.02%, ce dernier se rapproche à celui rapporté par Cao et *al.*, qui est de 32% (Cao et *al.*, 2002). Ce taux élevé chez *K. pneumoniae* est probablement dû au fait que cette souche est productrice des enzymes inactivant les C3G tel que les BLSE et les céphalosporinases (Carrèr et Nordmann, 2009).

Tableau N° XXIX : Comparaison des taux de résistance des souches isolées.

Souches	Nos résultats	Autres résultats	Référence
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	39.02%	37%	Mkaouar et <i>al.</i> , 2008
<i>E. coli</i>	2,64%	67,5	Belmonte et <i>al.</i> , 2010
<i>E. cloacae</i>	20%	20%	Kim et Lim, 2005
<i>Morganella morganii</i>	1/4 EF	20 %	Vaillant et <i>al.</i> , 2009
<i>Proteus mirabilis</i>	3,70%	42%	Mkaouar et <i>al.</i> , 2008
<i>Salmonella spp</i>	11,76%	0%	Belmonte et <i>al.</i> , 2010
<i>P. aeruginosa</i>	15%	20,7%	Ben Abdallah et <i>al.</i> , 2008
<i>A. baumannii</i>	8/9 EF	63,3%	Elouennass et <i>al.</i> , 2003

Le tableau suivant montre la comparaison des taux de résistance de nos souches à ceux qui obtenus dans le même laboratoire en 2009 (laboratoire central mère et enfant CHU Beni-Messous) (Benslimani, 2009).

Tableau N° XXX: Comparaison des taux de résistance de nos souches avec ce qui est rapporté en 2009 dans le même laboratoire.

Souche	Nos résultats	Résultats en 2009
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	39% (32/82)	60% (45/75)
<i>E. coli</i>	15,79% (7/265)	2,64% (18/114)
<i>E. cloacae</i>	20% (4/20)	65% (28/43)
<i>Serratia marcescens</i>	1/18 EF	4/11 EF
<i>Proteus spp</i>	3,70% (1/27)	2/23 EF
<i>Salmonella spp</i>	2/17 EF	53,8% (14/26)
<i>P. aeruginosa</i>	15% (6/40)	6,77% (4/59)
<i>B. baumannii</i>	0/11 EF	8/9 EF

Les taux de résistance des souches d'entérobactéries aux β -lactamines sont élevés à l'exception de l'imipénème qui reste actif sur toutes les souches. Nos résultats montrent que l'imipénème est la seule β -lactamine active pouvant être utilisée comme un traitement alternatif pour ces souches résistantes au cefotaxime et ceftazidime. Selon les anciennes études, ce dernier considéré, pour longtemps, comme un antibiotique de choix pour les cliniciens (Mansour et *al.*, 2008). Plusieurs études ont rapporté l'efficacité de cette molécule sur les souches d'entérobactéries productrices de BLSE : une sensibilité de 100 % a été rapportée par Goossens et Grabein, 2005.

Selon le réseau national de la surveillance des bactéries résistantes aux antibiotiques, en 2009, la résistance aux carbapénèmes commence à disséminer dans les hôpitaux algériens, dont des carbapénémases ont été isolées, des métallo- β -lactamases dont VIM-19 ont été isolées à l'hôpital central de l'armée à Alger en 2008 et 2009, VIM-4 a été caractérisée en 2010 à l'hôpital de Bouloghine (Benamrouche et *al.*, 2009).

Selon Mkaouar et *al.*, 2008, 20 souches de *K. pneumoniae* résistantes à l'imipénème appartenant à un même clone ont été isolées chez 11 patients. Cette souche était productrice de BLSE type CTX-M 15, d'AmpC type CMY-4 et de métallo- β -lactamase type VIM-4 (Mkaouar et *al.*, 2008).

Le système européen de surveillance de la résistance aux antibiotiques surveille les taux de résistance aux carbapénèmes chez les souches de *K. pneumoniae* isolées de bactériémies. En France, la prévalence de cette résistance est très faible, avec seulement 0,1 % de souches résistantes en 2008. À l'inverse, en Grèce, on observait 27,8 % de souches résistantes dès le début de la surveillance en 2005, et ce taux est passé à 43,5 % en 2009. En Israël, la résistance, quasiment nulle (0,3 %) en 2005, n'a cessé d'augmenter depuis, avec 11,1 % de souches résistantes en 2006, 21,8 % en 2007, puis une stabilisation avec 19,3 % en 2008. Cette très forte progression des taux de résistance chez *K. pneumoniae* en Israël et en Grèce est due principalement à la diffusion de deux types d'enzymes, KPC et VIM (Grall et *al.*, 2011).

Pour les autres résistances associées aux β -lactamines, on retrouve la ciprofloxacine qui montre une activité faible sur les souches résistantes au cefotaxime et ceftazidime (33.33%). Touati *al.*, 2006 ont rapportés un taux de 0%. Cependant plusieurs auteurs ont rapporté des taux de résistance variables à cette molécule : 55% de souches BLSE sont

résistantes à la ciprofloxacine dans l'étude rapportée par Eisner et *al.* (Eisner et *al.*, 2006), et 80% rapportés par Goossens et Grabein (Goossens et Grabein, 2005).

La résistance aux aminosides observée dans notre étude est élevée, 75% pour la gentamycine et 33,33% pour l'amikacine, on note 89,58% de résistance au cotrimoxazole. Des taux de 76% de résistance aux aminosides et 57% au cotrimoxazole sont rapportés par Touati et *al.* 2006. A part les souches naturellement résistantes, aucune résistance n'a été observée pour la colistine. La plupart des souches productrices de BLSE de type CTX-M, sont non seulement résistantes à la majorité des β -lactamines mais également à de nombreux antibiotiques des autres familles tels que les fluoroquinolones, les aminosides, le cotrimoxazole, les tétracyclines ou encore le chloramphénicol (Ruppé, 2010). L'association de la résistance de ces molécules a été signalée par de nombreux auteurs (Lemort et *al.*, 2006).

Parmi les 6 souches de *P. aeruginosa* résistantes, 3 sont résistantes à la ceftazidime, ticarcilline, pipéracilline et 5 sont résistantes à l'imipénème, des taux de 13,25% et 10,93% pour la ceftazidime et l'imipénème respectivement ont été rapportés par le réseau national de la surveillance des bactéries résistantes aux antibiotiques, en 2009 (Benslimani, 2009). Des taux de 26%, 26,2% et 23,6% pour la ticarcilline, pipéracilline et ceftazidime respectivement ont été rapportés par Ben Abdallah et *al.*, en 2008 en Tunisie.

Des différents taux de résistance à l'imipénème ont été rapporté en France par Minchella et *al.*, 2010, 17,4% en 2002, 12,2% en 2003, 13,2% en 2004, 15,5% en 2005 et 17,2% en 2006 (Minchella et *al.*, 2010). Les phénotypes probables de la résistance de ces souches à l'imipénème sont ; soit l'hyperproduction de la céphalosporinase naturelle associée à une altération d'imperméabilité ou une perte de porines oprD2, mêmes phénotypes rapportés par Grall et *al.*, 2011.

Concernant la résistance aux aminosides, 1/6 est résistante à tous les aminosides testés. Selon Ben Abdallah et *al.* 2008 en Tunisie, les aminosides sont des antibiotiques bactéricides souvent prescrits en association avec les β -lactamines dans le traitement des infections graves à *P. aeruginosa*, la résistance à ces antibiotiques est de 30,1% (Ben Abdallah et *al.*, 2008). Selon Enoch et *al.*, le taux moyen de résistance aux (pipéracilline, ceftazidime, imipénème et gentamycine) des souches de *P. aeruginosa* isolés dans le sang diffèrent selon la région, il est de 15% en Amérique de sud, 9,3% en Europe et 2,1% en Amérique de nord entre 1997 et 2001 (Enoch et *al.*, 2007). Aucune de nos souches résistent à la ciprofloxacine (0% de résistance), ce résultat est différent à ce qui est rapporté dans la

littérature, par exemple en France 34,7% en 2002 et 33,1% en 2006 (Minchella *et al.*, 2010). Ben Abdallah *et al.* 2008 ont rapporté un taux de 21,6% en Tunisie, 40% en Europe et 16% aux États-Unis.

Les β -lactamases naturelles de l'*A. baumannii* de type AmpC sont résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases et confèrent une résistance aux aminopénicillines, C1G et C2G mais pas pour le céfépime et dans le cas d'une hyperproduction de cette céphalosporinase, on aura une résistance aux pipéracilline et à la ticarcilline (Joly-Guillou, 2006). Toutes nos souches sont résistantes à la ceftazidime, une étude faite en Grèce a montré que >94% des souches *A. baumannii* sont résistantes à la ceftazidime, l'amikacine et à l'imipénème (Enoch *et al.*, 2007).

La résistance d'*A. baumannii* aux carbapénèmes a augmenté de manière alarmante ces dernières décennies, du à l'usage abusif de cette classe d'antibiotique dans les services hospitaliers y a largement contribué. Cependant, la résistance à imipénème est variable selon les auteurs, allant de 3,1 à 60 % (Chbani *et al.*, 2004). La résistance de ces souches aux aminosides observée est variable, toutes les souches sont sensibles à la netilmycine et 6/8 sont résistantes à l'amikacine. Des différents taux de résistance aux aminoside ont été rapportés dans la littérature ; 64.9% en Tunisie (Ben Haj et Khedher , 2010) et 95% en Corée (Lim *et al.*, 2007). Pour l'amikacine, 38.3% des résistances en Turquie (Kulah *et al.*, 2010) , 35.9% en Tunisie (Ben Haj et Khedher , 2010), 35.8% au Maroc (Lahsoune *et al.*, 2007). 6/8 des souches sont résistantes à la ciprofloxacine, cette résistance est de 73% en Inde (Joshi *et al.*, 2003) et de 54% dans les hôpitaux tunisiens (BenHaj et Khedher ,2010).

La colistine reste le seul antibiotique auquel aucune des souches n'est résistante ce qui peut être expliqué par le fait que cet antibiotique n'est pas encore utilisée pour le traitement des infections aux entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *A. baumannii* en Algérie, selon Gounden *et al.*, 2009 ; la colistine est un antibiotique acceptable pour le traitement des infections à d'*A. baumannii* quand cette espèce résistante aux d'autres familles d'antibiotiques disponibles (Gounden *et al.*, 2009).

Les phénotypes de résistance observés dans notre étude sont variables à savoir l'imperméabilité, l'hyperproduction des céphalosporinases chromosomiques, production de BLSE notamment de type CTX-M, production des céphalosporinases plasmidiques, production des carbapénèmases ou l'association de ces mécanismes.

La production des BLSE (BLSE seules ou associés aux d'autres mécanismes) chez nos souches d'entérobactéries résistantes est de 89.58% (43/48). 3 souches d'*A. baumannii* sont productrices de BLSE, alors que aucune souche de *P. aeruginosa* ne les produit. Selon le réseau national de surveillance des bactéries résistantes en Algérie, en 2009, la production de BLSE était de 22,02% dans 16 laboratoires, et que le nombre des souches de d'*A. baumannii* et *P. aeruginosa* reste faible (Benslimani, 2009).

Tableau N° XXXI: Comparaison de nombre des souches productrices de BLSE dans des différents hôpitaux en Algérie avec nos souches (Benslimani, 2009).

	Entérobactéries	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
Nos résultats	43/460	0/40	3/9
Résultats de même laboratoire en 2009	11/292	NP	NP
CHU Mustapha Bacha	66/202	0/111	23/60
CHU Tizi-Ouzou	154/744	2/172	1/24
HMRU Constantine	92/434	27/120	6/28
HMRU Oran	44/186	2/52	0/13

NP : Non précisé

Dans notre étude, une souche d'*E. coli* présente un phénotype BLSE associée à une céphalosporinase. La résistance chez *E. coli* peut être associée à l'acquisition d'un gène *ampC* transférable sur un plasmide ou autres éléments transférables (porteur de promoteur fort) (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).

Dans notre étude deux souches de *K. pneumoniae* présentent le même phénotype (BLSE associée à une céphalosporinase), des résultats semblables ont été rapportés par Cuzon et al, 2010b. Cette association de mécanisme s'exprime par des CMI très élevées, pour

nos souches, des CMI > à 128µg/ml ont été obtenues *vis-à-vis* de la cefoxitine, cefotaxime, ceftazidime et la céfepime. En Algérie, une étude réalisée entre 2003 et 2007, portant sur la prévalence des entérobactéries productrices de céphalosporinases plasmidiques isolées au niveau des hôpitaux d'Alger, a montré récemment une prévalence de 2,18% comportant 8 enzymes de type CMY-2 et 3 de type DHA-1 (Iabadene et *al.*, 2009).

La production des BLSE de type CTX-M chez nos souches est de 70.83%, ces souches sont caractérisées par des CMI élevées allant jusqu'à 128 µg/ml pour la cefotaxime et la céfepime. Les BLSE de type CTX-M sont les enzymes les plus répandues, distribuées à la fois sur de vastes régions géographiques et entre une large gamme de bactéries cliniques, en particulier, les membres de la famille des entérobactéries (Ben Achour et *al.*, 2009). Des études à l'échelle nationale ont montré que les CTX-M-15 et CTX-M-3 sont les plus isolées en Algérie (Ramdani-Bougessa et *al.*, 2006 ; Touati et *al.*, 2006 ; Iabadene et *al.*, 2008 ; Messai et *al.*, 2008).

La résistance par hyperproduction des céphalosporinases naturelles est de 8.33%, Belmonte et *al.*, 2010, ont rapporté un taux de 5,2 %. *Enterobacter cloacae*, *P. aeruginosa* et *A. baumannii* possèdent naturellement une céphalosporinase chromosomique, qui peut être alors surexprimée suite à des mutations (Gueudet et *al.*, 2010). Les céphalosporinases semblent moins fréquentes que les BLSE, leur prévalence est probablement sous-estimée car leur détection est difficile (Jocoby, 2009 ; Bush, 2010).

Selon Zhou et *al.*, 2007, l'imipénème est hydrolysé par des carbapénémases de la classe B ou D qui peuvent être présentes chez les souches d'*Acinetobacter ssp* (Zhou et *al.*, 2007). Dans notre étude, 3 souches d'*A. baumannii* sont productrices de MβL, ces enzymes lui confèrent une résistance qui s'exprime par des CMI très élevées *vis-à-vis* de l'imipénème (64µg/ml). Aucune souche de *P. aeruginosa* n'est productrice. La production des MβL varie selon les pays et le microorganisme en question, elle a été respectivement de 33.3, 32 et 14.2 % en Turquie, en Amérique latine et en Corée pour *A. baumannii* et de 56.8, 17,5 et 11.4 % pour *P. aeruginosa*. Ces résultats montrent que la fréquence de ces souches augmente de façon inquiétante partout dans le monde et leur émergence représente un sérieux risque épidémiologique pour au moins deux raisons, d'une part ces MβL confèrent non seulement la résistance à l'IMP mais à toutes les β-lactamines et aux autres classes d'antibiotiques comme les aminosides, et d'autre part les gènes codant pour ces enzymes sont portés par des intégrons qui peuvent se transmettre horizontalement à d'autres souches (Ait el kadi et *al.*, 2006).

En plus de sa production d'une métallo- β -lactamase, la résistance de ces souches à l'aztréoname (CMI $>128\mu\text{g/ml}$), laisse supposer qu'elles peuvent être productrices des oxacillinases. En effet, le mécanisme de résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* correspond à l'acquisition de métallo- β -lactamase et d'oxacillinase (Lin et al., 2011). Les métallo- β -lactamases décrites chez *A. baumannii* sont de type VIM, IMP, SIM (Poirel et Nordmann, 2006).

Les oxacillinase naturelles (OXA-69, OXA-51) d'*A. baumannii* peuvent être hyperproduites en cas de l'insertion en amont du gène codant cette oxacillinase d'une séquence d'insertion appelée *ISAbal* qui apporte des séquences promotrices fortes (Lee et al., 2009). En plus de ces enzymes, il existe d'autres oxacillinases acquises représentées essentiellement par OXA-23, OXA-24 and OXA-58 (Poirel et Nordmann, 2006).

Drissi et al, ont récemment identifié OXA-58 chez des souches d'*A.baumannii* isolées dans le CHU de Tlemcen (Algérie). Les investigations génétiques ont démontré que le gène codant pour OXA-58 est flanqué pas des séquences d'insertions (*ISAbal3-blaOXA-58-ISAbal3*) qui semblent être à l'origine de son acquisition et son expression, porté par un plasmide, le gène OXA-58 semble être capable de disséminer, renforçant ainsi la probabilité que les oxacillinases suspectées chez nos souches soient de type OXA-58 (Drissi et al., 2010).

Le transfert des gènes de résistances pour les BLSE par conjugaison, implique des éléments génétiques mobiles, tels que les plasmides. Ceux-ci, peuvent facilement dupliquer et se propager rapidement parmi différentes espèces bactériennes par transfert horizontal, ce qui représente un grand risque avec des conséquences significatives environnementales (Pai et al., 2004). Dans notre étude, pour les souches productrices des CTX-M, il n'y a pas eu lieu de transfert du gène *bla_{CTX-M}*. L'absence de transconjugants peut être expliquée par le fait que les plasmides portant le gène *bla_{CTX-M}* ne soient pas conjugatif. En effet, même si, dans la majorité des cas, le gène *bla_{CTX-M}* est porté par un plasmide conjugatif, certains plasmides portant ce même gène ne sont pas transférables (Walther-Rasmussen et Høiby, 2004). Le gène *bla_{CTX-M}* peut cependant être transféré par d'autres éléments mobilisables à savoir, les intégrons et les transposons (Corkill et al., 2005). Des résultats similaires ont été rapportés par Wang et al., 2007. Le gène *bla_{AmpC}* n'a pas été transféré contrairement a ce qui est rapporté par Messai et al, 2006, dont le gène *bla_{AmpC}* est porté par un plasmide transférable de 7,14kb chez deux souches d'*E. coli*. Le gène *bla_{CAZ}* est parfaitement transféré, même résultat rapporté par Miradi et al., 2009.

Conclusion

En résumé, nous avons obtenu au cours de notre étude les résultats suivants :

- Au total 509 souches ont été isolées et identifiées, dont 460 sont des entérobactéries, 40 sont des *P. aeruginosa* et 9 sont des *A. baumannii*.
- 62 souches sont résistantes, dont le taux globale de la résistance est de 12,18% (62/509).
- 48/62 des souches résistantes sont des entérobactéries, 8/62 sont des *A. baumannii* et 6/62 sont des *P. aeruginosa*.
- La plupart des souches résistantes ont été isolées en pédiatrie avec un taux de 23,47 %.
- Les nourissons sont les plus touchée par la résistance.
- 5/6 *P. aeruginosa* et 3/8 des souches d'*A. baumannii* sont résistant à l'imipénème.
- 70.83% des souches résistent par la production des BLSE de type CTX-M, ce qui reflète une épidémie à BLSE dans cet hôpital.

Notre étude montre que la résistance aux carbapénèmes des bacilles à Gram négatif, commence à disséminée d'une façon rapide dans nos hôpitaux, en particulier par production de carbapénèmases, en conséquences, les infections à ces bactéries productrices de carbapénèmases entraînent de véritables situations d'impasse thérapeutique et sont directement responsables d'une surmortalité.

Des études épidémiologiques seront nécessaires pour évaluer de façon précise la distribution de ces β -lactamases qui pourraient émerger plus dans le futur.

Une meilleure maîtrise en termes d'hygiène hospitalières (renforcement de la formation du personnel aux règles préventives, précocité du dépistage. . .) et un meilleur contrôle de la consommation en antibiotique seraient toutefois des facteurs favorisant une meilleure maîtrise des risques. L'analyse moléculaire des clones détectés paraît indispensable à terme pour une compréhension et une réaction adaptée à l'émergence des BMR.

En perspectives, nos résultats obtenus au cours de notre étude restent préliminaires et méritent d'être exploités et complétés par :

- Identification de type de β -lactamases par des réactions de PCR et séquençage des gènes,
- Recherche des gènes de résistance aux autres familles d'antibiotiques associés aux β -lactamases,
- Élargir la période d'étude afin d'avoir des résultats représentatifs et significatifs, où sera pris en compte un nombre plus considérable de groupes bactériens à savoir les Gram positif et d'autres bactéries à Gram négatif.
- Suivre l'évolution de la résistance en pédiatrie, afin d'évaluer mieux les facteurs de risque chez l'enfant.

Bibliographie

A

Ait El Kadi M., Aghrouch M., Seffar M., El harti J., Bouklouze A., Cherrah Y, SoulyK. et Zouhdi M. (2006). Prévalence des souches d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à l'imipénème par production de métallo- β -lactamases. *Médecine et maladies infectieuses*. **36**: 386–389.

Avril J. M., Dabernat H. et Monteil D. H. (2000). Bactériologie clinique. 3^{ème} Ed. Ed Elsepses. Paris. 602 P

B

Baditiou L., Licker M., Popovici E.D., Vaduva D.B., Draqomirescu L., Pîvan R., Muntean D., Horhat F. et Moldovan R. (2009). Risk factors involved in multiresistant infections with strains of enterobacteriaceae. *Bacteriology Virusology Parazitology Epidemiology*. **54** :31-39.

Barbe C., Fusellier A., Bureau Chalot F., Brasme L., Vernet G. V., De Champs C. et Bajolet O. (2010). Étude des facteurs prédictifs d'acquisition d'une souche épidémique d'*Escherichia coli* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu. *Pathologie Biologie*. **58** :25-28.

Belmonte O., Drouet D., Alba J., Moiton M-P., Kuli B., Lugagne-Delpon N., Mourlan C. et Jaffar-Bandjee M-C. (2010). Evolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques sur l'île de la Réunion : émergence des beta-lactamases à spectre élargi. *Pathologie Biologie*. **58** : 18-24.

Ben Abdallah H., Noomen S., Ben Elhadj Khélifa A., Sahnoun O., Elargoubi A. et Mastouri M. (2008). Susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in the Monastir region, Tunisia. *Médecine et maladies infectieuses*. **38** :554-556.

Ben Achour N., Mercuri P.S., Power P., Belhadj C., Ben Moussa M., Galleni M. et Belhadj O. (2009). First detection of CTX-M-28 in a Tunisian hospital from a cefotaxime-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain. *Pathologie Biologie*. **57**: 343-348.

Ben Haj Khalifa A. et Khedher M. (2010). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*A.baumannii* isolées dans la région de Mahdia. *Médecine et maladies infectieuses*. **40** :126-128.

Ben Romdhane F., Bougherra C.H., Sahnoun O., Loussaief C.H., Kacem B., Mastouri M., Tabka-Stambouli R., Chakroun M., Bouzouaia N. (2007). Les bactéries multirésistantes isolées chez les malades hospitalisés dans un service de maladies infectieuses. *Revue Tunisienne Infectology*. **1**:12-15.

Benamrouche N., Hadjila L. et Rahal K. (2009). Mécanismes de résistance aux antibiotiques des bactéries résistantes en Algérie. Revue bibliographique. *In* : Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 11^{ème} rapport d'évaluation (Janvier à Décembre 2009). 198P.

Benslimani A. (2009). MRSA, entérobactéries BLSE, Acinetobacter spp. et P. aeruginosa résistants à l'imipénème, à la ceftazidime et à la ciprofloxacine. *In* : Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 11^{ème} rapport d'évaluation (Janvier à Décembre 2009). 198P.

Bidet P. et Bingen E. (2007). Enterobacteriaceae. *In* : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson . Paris. P : 295-322.

Bonacorsi S. (2007). Examen cytot bactériologique des urines. *In* : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson . Paris. P :135-143.

Bonnet R. (2004). Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.* **48**:1-14

Bou G. et Martinez-Beltran J. (2000). Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC β -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* **44**: 428-32.

Bradford P. A. (2001). Extended-Spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews.* **14** (4): 933-951.

Bréaud J. et Guys J.M. (2005). Décalottage ou circoncision : quelle indication dans le Phimosis. *Archives de pédiatrie.* **12**: 1424-1432.

Bush K. et Jacoby G. A. (2010). Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **54** (3): 969-976.

C

Campeotto F., Garnier F., Kalach N., Soulaines P., Dupont C. et Raymond J. (2004). Acquisition nosocomiale de bactéries multirésistantes dans un service de néonatalogie : étude prospective et analyse des facteurs de risque. *Archives de pédiatrie.* **11** : 1314-1318.

Cao V., Lambert T., Nhu D. Q., Loan H. K., Hoang N. K., Arlet G. et Courvalin P. (2002). Distribution of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Vietnam. *Antimicrob Agents Chemother.* **46**:3739-43.

Caracciolo A., Bettinelli A., Bonato C., Isimbaldi C., Tagliabue A., Longoni L. et Bianchetti M. (2011). Antimicrobial resistance among *Escherichia coli* that cause childhood community-acquired urinary tract infections in Northern Italy. *Italian Journal of Pediatrics.* **37**: 1-3.

Carrër A. et Nordmann P. (2009). *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15 : vers une modification de l'épidémiologie des β -lactamases à spectre étendu. *Pathologie Biologie*. Article in Press.

Cattoir V. (2004). Efflux-mediated antibiotics resistance in bacteria. *Pathology Biology*. **52**: 07-16.

Cattoir V. (2008). Les nouvelles β -lactamases à spectre étendu (BLSE). *Pathologie infectieuse en réanimation* : 203-209.

Cavallo J.D., Fabre R., Jehl F., Rapp C. et Garrabé E. (2004). Bêta-lactamines. *EMC-Maladies Infectieuses*. **1**: 129-202.

Chbani F., Zoughaghi L., Taouragt K., Aarab H. et Benaouda A. (2004). *Acinetobacter baumannii* : épidémiologie et résistance aux antibiotiques. *Prat.* **14**(2):23-4.

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CFA-SFM). Recommandations 2010. Société Française de Microbiologie. 50P

Corrkill J. E., Anson J.J. et Hart C.A. (2005). High prevalence of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnrA* in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* from blood cultures in Liverpool, UK. *Int J Antimicrob Chemother* ; **56**: 1115-1117.

Corvec S., Caroff N., Espaze E., Giraudeau C., Drugeon H. et Reynaud A. (2003). AmpC cephalosporinase hyperproduction in *Acinetobacter baumannii* clinical strains. *J Antimicrob Chemother*. **52**: 629-35.

Coudron P. E., Hanson N. D. et Climo M.W. (2003). Occurrence of extended-spectrum and AmpC beta-lactamases in bloodstream isolates of *Klebsiella pneumoniae*: isolates harbor plasmid-mediated FOX-5 and ACT-1 AmpC beta-lactamases. *J Clin Microbiol.* **41**:772-777.

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

Cuzon G., Naas T., Guibert M. et Nordmann P. (2010). In vivo selection of imipénème resistant *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamase CTX M-15 and plasmid-encoded DHA-1 céphalosporinase. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **35**: 265-268.

D

D'Escrivan T., Faure K., Boussekey N., Soubrier S. et Guery B. (2004). Facteurs de risque de bactéries multirésistantes chez les patients admis en réanimation pour une bactériémie nosocomiale. *Médecine et maladies infectieuses*. **34** : 130-169.

Djennane F., Mohammedi D., Tiouit D., Touati D. et Rahal K. (2009). Examen Cytobactériologique des Urines. Techniques Microbiologiques. Institut Pasteur d'Algérie. 76P.

Drissi M., Poirel L., Mugnier P.D., Baba Ahmed Z. et Nordmann P. (2010). Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii*, Algeria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **29**:1457-1458.

E

Eisner A., Fagan E. J., Feierl G., Kessler H. H., Marth E., Livermore D. M. et Woodford N. (2006). Emergence of *Enterobacteriaceae* isolates producing CTX-M extended-spectrum beta-lactamase in Austria. *Antimicrob Agents Chemother.* **50**:785-7.

Elouennass M., Bajou T., Lemnouer A. H., Foissaud V., Hervé V. et Baaj A.J. (2003). *Acinetobacter baumannii*: susceptibility of strains identified in the military instruction hospital Mohammed V, Rabat, Morocco. *Médecine et maladies infectieuses.* **33**: 361-364.

Empel J., Filczak K., Mrowka A., Hryniewicz W., Livermore D. et Gniadkowski M. (2007). Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections with PER-1 extended-spectrum beta-lactamases in Warsaw, Poland: further evidence for an international clonal complex. *Clinical Microbiology Journal.* **45**: 2829-2834.

Enoch D.A., Birkett C.I. et Ludlam H.A. (2007). Non-fermentative Gram-negative bacteria. *Journal of Antimicrobial Agents.* **3** : 33-41.

Essack S. Y. (2001). The development of beta-lactam antibiotics in response to the evolution of beta-lactamases. *Pharm Res.* **18**:1391-1399.

Euzeby J.P. (2010). : Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Le texte original est librement disponible sur: <http://www.bacteriologie.net/generale/resistancenaturelle.html>

F

Fauchère J. L. et Avril J. L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. Paris. 368P.

Faure S. (2009). Transfert d'un gène de résistance aux β -lactamines *bla*_{CTX-M-9} entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : Impact d'une antibiothérapie. Thèse de doctorat. Université Rennes de France. 190P.

G

Garrity G. M., Bell J. A. et Lilburn T. (2010). Pseudomonadales. In: **Brenner D. J., Krieg N. R. Staley T.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2eme ED. **2**. P: 323-441.

Giamarellou H., Antoniadou A. et Kanellakopoulou K. (2008). *Acinetobacter baumannii* : a universal threat to public health. *International Journal of Antimicrobial Agents.* **32** :106-119

Gillespie S. H. et Hawkey P.M. (2006). Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Edition wiley. 2^{ème} Edition. London. 604P.

Goossens H., et Grabein B. (2005). Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended-spectrum beta-lactamase- and AmpC-producing *Enterobacteriaceae* from the

MYSTIC Program in Europe and the United States (1997-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis.* **53**:257-64.

Gounden R., Bamford C., Zyl-Smit R. v., Cohen K. et Maartens G. (2009). Safety and effectiveness of colistin compared with tobramycin for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *BMC Infectious Diseases.* **9** (26):1-6.

Grall N., Andremont A. et Armand-Lefèvre L. (2011). Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse. *Journal des Anti-infectieux.* **13** : 87-102.

Granier F. et Denis F. (2007). Hemoculture. In : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson . Paris. P :107-115.

Gueudet T., Richter S., Szulc M. et Jehl F. (2010). Les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques: deux cas de *Klebsiella pneumoniae* produisant une céphalosporinase plasmidique. *Médecine et maladies infectieuses.* **40** :177-179.

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

H

Hamza R., Blanco I., Kammoun H., Saidani B., Bokri M., Hassine J., Fersi M., Gandoura N. et Nedjai A. (2008). Incidence de l'infection nosocomiale en pédiatrie dans la région de Bizert : résultats d'une surveillance de 03 mois. *Rev Tun Infectiol.* **3**(3) : 11-20.

Héritier C., Poirel L. et Nordmann P. (2006). Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of *ISba1* in *Acinetobacter baumannii*. *Clinical Microbiology Infections.* **12**: 123-30.

Héritier C., Poirel L., Fournier P.E. Claverie J.-M., Raoult D. et Nordmann P. (2005). Characterization of the naturally-occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* **49**: 4174-4179.

Hoquet D., Liane I., Patry F., Garch E. et Plesiat P. (2004). Two efflux systems expressed simultaneously in clinical *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathology Biology.* **52**: 455-461.

J

Iabadene H., Messai Y., Ammari H., Ramdani-Bougoussa N., Lounes S., Bakour R. et Arlet G. (2008). Dissemination of ESBL and Qnr determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **62**: 133-136.

J

Jacoby A. (2009). AmpC β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews.* **22** :161–182.

Jacoby G. A. (2006). β -lactamase Nomenclature. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy.* **50** (4): 1123–1129.

Jacoby G. A. et Munoz-Price L. S. (2005). The New β -Lactamases. *The new england journal of medicine*. **352**:380-91.

Jeon B.C., Jeong S.H., Bae I.K., Kwon S.B., Lee K., Young D., Lee J.H., Song J.S. et Lee S.H. (2005). Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 β -lactamase in Korea. *Journal of Clinical Microbiology*. **43**:2241-5.

Jeong S.H., Bae I.K., Park K.O., An Y.J., Sohn S.G., Jang S.J., Sung K.H., Yang K.S., Lee K., Young D. et Lee S.H. (2006). Outbreaks of Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Producing Carbapenemases in Korea .*The Journal of Microbiology*. **44** (4):423-431.

Joly B. et Reynaud A. (2002). Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Ed TEC & DOC et Ed médicales Inter Nationales. Paris. 356P.

Joly-Guillou M. L. *Acinetobacter*. (2006). In **Courvalin P., Leclercq R. et Bingen E.** AntibioGramme. Ed ESKA. Paris. P: 395-398.

Joly-Guillou M.L. et Bergogne-Bérézin E. (2006). Les bactéries du genre *Acinetobacter* revisitées : Leur importance actuelle.*Antibiotiques*. **8**:94-99.

Joshi S.G., Geeta M., Litake, Krishnarao B. Niphadkar. et Vikram S. G. (2003) Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a teaching hospital.*Journal of Infection Chemotherapy*. **9**:187–190.

K

Kim J. et Lim Y.M. (2005). Prevalence of derepressed ampC mutants and extended-spectrum beta-lactamase producers among clinical isolates of *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., and *Serratia marcescens* in Korea: dissemination of CTX-M-3, TEM-52, and SHV-12. *J Clin Microbiol*. **43**:2452-5.

Kulah C., Mooij M.J., Comerta F., Aktasa E., Celebic G., Ozlua N., Rijnsburgerb M.C. et Savelkoul P.H.M. (2010). Characterisation of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak strains producing OXA-58 in Turkey. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **36** :114–118.

Kumar A. et Schweizer H. P. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake . *Adv Drug Deliv Reviews*. **57**:1486-1513.

L

Labuschagne DE. J. C. (2007). Rapid Detection of GES-type Extended-spectrum β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* with a Peptide Nucleic Acid-based Realtime PCR Assay. Thèse de Magister. University Pretoria of South Africa. 173P.

Lahlou-A. I., Salord H., Gille Y., Roure C., Tigand S., Bajou T, Rtabi N. et Kassem H. L. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* et résistance isolée à l'imipénème : Clone émergent en milieu hospitalier. Article originale. *Les technologies de laboratoire*. (11) :5-9.

- Lahlou Amine I., Chegri M. et L’Kassmi H.** (2009). Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d’infections urinaires à l’hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. *Antibiotiques*. **11** : 90-96.
- Lahsoune M., Boutayeb H., Zerouali K., Belabbes H. et El Mdaghri N.** (2007). Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d’*Acinetobacter baumannii* dans un CHU marocain. *Médecine et maladies infectieuses*. **37** :828–831.
- Lambert T.** (2007). *Acinetobacter*. In : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson . Paris. P :344-346.
- Larabi K., Masmoudi A. et Fendi C.** (2003). Etude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d’infection urinaires dans un CHU de Tunis: à propos de 1930. *Médecines et Maladies infectieuses*. **33** : 348-352.
- Lee H.Y., Su L.H., Tsai M.H., Kim S.W., Chang H.H., Jung S.I., Park K.H., Perera J., Carlos C., Tan B.H., Kumarasinghe G., Chongthaleong A., Hsueh P.R., Liu J.W., Song J.H. et Chiu C.H.** (2009). High rate of reduced susceptibility to ciprofloxacin and ceftriaxone among nontyphoid *Salmonella* clinical isolates in Asia. *Antimicrob Agents Chemother*. **53**: 2696–2699.
- Lee K., Kim C.K., Yong D., Jeong S.H., Yum J.H., Seo Y.H., Docquier J.D. et Chong Y.** (2010). Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *Journal of Microbiological Methods* **83**:149–152.
- Lemort M.L., Neuville S., Medus M., Gueudet P., Saada M., Aumaître H. et Lecaillon E.** (2006). 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*. **54** :427-430.
- Li X. Z., Barré N. et Poole K.** (2000). Influence of the MexA-MexB-OprM multidrug efflux system on expression of the MexC-MexD-OprJ and MexE-MexF-OprN multidrug efflux system in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics microbiology chimothyrapy Journal*. **46**: 885-893.
- Liassine N.** (2000). Problème des pathogènes à Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweiz Med Wochenschr* .**130**: 1930-1936.
- Lim Y.M., Shin K.S. et Kim J.** (2007). Distinct Antimicrobial Resistance Patterns and Antimicrobial Resistance-Harboring Genes According to Genomic Species of *Acinetobacter* Isolates. *Journa of Clinical Microbiology*. 902–905.
- Lin M.F., Chang K.C., Lan C.Y., Chou J., Kuo J.W., Chang C.K. et Liou M.L.** (2011). Molecular Epidemiology and Antimicrobial Resistance Determinants of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Five Proximal Hospitals in Taiwan. *Journal Infectious Diseases*. **64** : 222-227.
- Livermore D. M.** (1995). β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. **8**:557-84.

Livermore D. M. (1998). β -lactamase-mediated resistance and opportunities for its control. *J Antimicrob Chemother.* **41**:25-41.

M

Maiti S. N., Babu R. P K. et Shan R. (2006). Overcoming Bacterial Resistance: Role of β -Lactamase Inhibitors. *Top Heterocycl Chemistry.* **2**: 207-246.

Mammeri H., François Eb., Berkani A. et Nordmann P. (2008). Molecular characterization of AmpC-producing *Escherichia coli* clinical isolates recovered in a French hospital. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **61**: 498-503.

Mansour W., Bouallegue O., Dahmen S. et Boujaafar N. (2008) .Caractérisation des mécanismes enzymatiques de résistance aux b-lactamines chez des souches de *Acinetobacter baumannii* isolées à l'hôpital universitaire Sahloul, Sousse en Tunisie (2005). *Pathologie Biologie.* **56** :116–120.

Mariani-Kurkdjian P. et Bingen E. (2007a). Analyse bactériologique des selles. *In* : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson . Paris. P : 145-154.

Mariani-Kurkdjian P. et Bingen E. (2007b). Diagnostic bactériologique et suivi biologiques des méningites bactériennes. *In* : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson . Paris. P : 145-154.

Martin C. (2007). Bacilles à Gram négatif non fermentaires. *In* : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson . Paris. P : 330-343.

Matewish M. et Lam J. S. (2004) *Pseudomonas.* *In*: **Carlton L. G., John F. P., Glenn J. S. et Charles O. T.** Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Third Edition. Blackwell Publishing. P: 321-333.

Matthew P. M., MD. et F.R.C.P.C. (2004). Beta-lactamase-mediated resistance in Gram-negative bacteria. *Infectious Diseases end Microbiology.* **3**: 1-6.

Mayoral G., Ferreyra M., Eden A., Gueudet P., Miquel C. et Lecaillon E. (2010). Evolution of third generation cephalosporins resistance in Enterobacteriaceae from 2000 to 2008 in Perpignan hospital. *Pathologie Biologie.* **58**: 7-10.

Meradi L., Djahoudi A., Abdi A., Bouchakour M., Perrier Gros Claude J. D. et Timinouni M. (2009). Résistance aux quinolones de types *qnr*, *aac (6)-Ib-cr* chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie. *Pat Bio.* Sous presse.

Mesaros N., Nordmann P., Plésiat P., Roussel-Delvallez M., Eldere J. Van, Glupczynski Y., Laethem Y. Van, Jacobs F., Lebecque P., Malfroot A., Tulkens P.M. et Bambeke F. Van. (2007). *Pseudomonas aeruginosa*: résistance et options thérapeutiques à l'aube du deuxième millénaire. *Antibiotiques.* **9** : 189-98.

Messai Y., Benhassine T., Naim M., Paul G. et Bakour. (2006). Prevalence of β -lactams resistance among *Escherichia coli* clinical isolates from a hospital in Algiers. *Rev Esp Quimioterap.* **19**: 144-151.

Messai Y., Ibadene H., Benhassine T., Alouache S., Tazir M., Gautier V., Arlet G. et Bakour R. (2008). Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie.* **56** : 319–325.

Minchella A., Molinari L., Alonso S., Bouziges N., Sotto A. et Lavigne J-P. (2010). Evolution of antimicrobials resistance against *Pseudomonas aeruginosa* in a French University Hospital between 2002 and 2006. *Pathologie Biologie.* **58**: 1-6.

Mkaouar D., Mahjoubi F., Mezghani S., Znazen A., Ktari S. et Hammami A. (2008). Étude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999–2005). *Médecine et maladies infectieuses.* **38** : 293-298.

N

Nass T. et Nordmann P. (2003). Phénotype de résistance aux antibiotiques compatible à celui de la souche d'*Acinetobacter baumannii* AYE* productrice de la β -lactamase VEB-1. *Journal of Clinical Microbiology.* **41** : 3542-3547.

Nass T., Poirel L. et Nordmann P. (2008). Minor extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect.* **14**: 42-52.

Nordmann P. (2003). Mechanism of resistance to β -lactam antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa*. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* **22**: 527–530.

Nordmann P. et Carrer A. (2010). Carbapenemases in enterobacteriaceae. *Archive de Pédiatrie.* **17** : 154-162.

P

Pai H., Kang C. I., Byeon J. H., Lee K. D., Park W. B., Kim H. B., Kim E. C., Oh M. D. et Choe K. W. (2004). Epidemiology and clinical features of bloodstream infections caused by AmpC-type- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents Chemother.* **48**: 3720-3728.

Péan Y., Goldstein F.W. et De Bels F. (2001). Évolution de la sensibilité et épidémiologie de la résistance des entérobactéries de ville au cours des enquêtes Vigil'Roc. *Méd Mal Infect.* **31** : 609-21.

Peleg A.Y., Seifert H. et Paterson D.L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews.* **21** (3): 538-582.

Philippon A. et Arlet G. (2006). β -lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel. *Ann Biol Clin.* **64** (1) : 37-51.

Philippon A., Arlet G. et Jacoby G. A. (2002). Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* **46**:1-11.

Ploy M-C. et Denis F. (2007). Analyse cytobactériologique des pus. In : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson . Paris. P : 165-169.

Poirel L. et Nordmann P. (2006). Résistance aux β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii*: évolution et émergence de nouveaux mécanismes. *Antibiotiques*. **8**: 100-107.

Poirel L. et Nordmann P. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms of Resistance, Multiple β -lactamases. *Acinetobacter Biology and Pathogenesis*. Springer Science et Business Media. 129- 143.

Poirel L., Menuteau O., Agoli N., Cattoen C. et Nordmann P. (2003). Outbreak of extended-spectrum beta-lactamases VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. *Clinical Microbiology Journal*. **41**: 3542-3547.

Poole K. (2004). Resistance to β -lactam antibiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences*. **61**: 2200-2223.

R

Ramdani-Bougoussa N., Mendonça N., Leitao J., Ferreira E., Tazir M. et canica M. (2006). CTX-M-3 and CTX-M-15 extended spectrum β -lactamases in isolates of *Escherichia coli* from a hospital in Algiers, Algeria. *Journal of Clinical Microbiology*. **44**: 4584-4586.

Roy D. (2000). Identification et caractérisation de la région variable des intégrons de classe 1 identifiés chez les différents isolats cliniques à Gram négatif et caractérisation du mécanisme résistance aux β -lactamines chez un isolat de *Salmonella spp* isolé au Québec. Mémoire de Maître es science. Université Laval. 197P.

Rupé E. (2010). Epidemiology of expanded-spectrum beta-lactamases: The rise of CTX-M. *Antibiotics Journal*. **12**: 3-16.

S

Saighi D., Peyromaure M. et Debré D. (2004). Urologie. Ed Masson. Belgique.191P.

Sekhsokh Y., Chadli M. et El Hamzaoui S.A. (2008). Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecines et maladies infectieuses*. **38** : 324-327.

Siegrist H.S. (2000). *Acinetobacter spp* : Infection nosocomiales, épidémiologie et résistance aux antibiotiques. Swiss-Noso. Suisse.

Silva J., Aguilar C., Ayala G., Estrada M. A., Garza-Ramos U., Lara-Lemus R. and Ledezma L. (2000). TLA-1: a New Plasmid-Mediated Extended-Spectrum b-Lactamase from *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*. **44** (4):997-1003

Singtohin S., Chanawong A., Lulitanond A., Sribenjalux P., Auncharoen A., Kaewkes W., Songsri J. et Pienthaweechai K. (2010). CMY-2, CMY-8b, and DHA-1 plasmid-mediated AmpC β -lactamases among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* from a university hospital, Thailand. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. **68**: 271-277.

Skopkova-Zarnayova M., Siebor E., Rovna D., Bujdakova H. et Neuwirth C. (2005). Outer membrane protein profiles of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates that differ in cefoxitin resistance. *FEMS Microbiol Lett.* **243**:197-203.

Sougakoff W. et Trystram D. (2003). Résistances aux β -lactamines. Service de Bactériologie-Hygiène -Pitié-Salpêtrière. Faculté de médecine. Université Pierre et Marie Curie. France. 78P.

Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine à échelle Nationale. Selon les recommandations de l'OMS. (2008). 5^{ème} Ed. 109 P.

Sylvie-Carle. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel.* **42** : 6-21.

T

Thabet L., Messadi A.A., Mbarek M., Turki A., Meddeb B. et Ben Redjeb S. (2008). Surveillance of multidrug resistant bacteria in a Tunisian hospital. *Journal Antimicrobial Agents.* **86**: 992-995.

Touati A. (2006). Caractérisation des phénotypes de résistances des entérobactéries aux β -lactamines isolées en milieu hospitalier : cas de deux hôpitaux de la wilaya de Bejaia. Thèse de doctorat. Université A/Mira de Bejaia. 91P.

Touati A., Benallaoua S., Forte D., Madoux J., Brasme L. et De Champs C. (2006). First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta β -lactamases among clinical isolates of enterobacteriaceae in Bejaia, Algeria. *Antimicrobial Agents Journal.* **27**: 397-402.

V

Vaillant L., Ramarokoto C.E., Randrianasolo L., Andrianirina F. et Richard V. (2009). Étude épidémiologique de la multirésistantes aux antibiotiques des entérobactéries à Madagascar en milieu hospitalier. *Médecine des maladies infectieuses.* **39** : S31-S33.

Villalobos H. R. et Struelens M. J. (2006). Extended spectrum β -lactamases mediated bacterial resistance: Implications for the intensivist. *Réanimation.* **15**: 205-213.

W

Walther-Rasmussen J. et Hoiby N. (2004). Cefotaximases (CTX-Mases), an expanding family of extended-spectrum β -lactamases. *Can J Microbiol.* **50**:137-65.

Walther-Rasmussen J. et Høiby N. (2007). Class A carbapenemases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **60** (3):470-482.

Wang H., Guo P., Sun H., Wang H., Yang Q., Chen M., Xu Y. et ZhuY. (2007). Molecular Epidemiology of Clinical Isolates of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese Hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 4022-4028.

Weber P., Durand-Heraud C. et le réseau Epiville. (2000). Etat actuel de la sensibilité à dix antibiotiques des bactéries isolées d'infections non urinaires en médecine de ville : enquête multicentrique Epiville 1997-1998. *Med Mal Infect.* **30** : 745-752.

Y

Yoo J.S., Byeon J., Yang J., Yoo J.I., Chung G.T. et Lee Y.S. (2010). High prevalence of extended-spectrum β -lactamases and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in *Enterobacteriaceae* isolated from long-term care facilities in Korea. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases.* **67**: 261-265.

Z

Zarilli R., Giannouli M., Tomasone F., Triassi M. et Tskris A. (2009). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: The molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. *J Inf Dev Ctries.* **3**(5): 335-341.

Zhou H., Pi B. R., Yang Q., Yu Y. S., Chen Y. G., Li L. J. et Zheng S. S. (2007). Dissemination of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains carrying the ISAbal–blaOXA-23 genes in a chinese hospital. *Journal of Medical Microbiology.***56**: 1076-1080.

ANNEXES

ANNEXE I

Résultats des tests biochimiques

<i>Souches</i>	RM	VP	Citrate	H₂S	Uree	Indol	LDC	ADH	ODC	Gaz	Lac	ONPG
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	d	-	d	-	-	+	d	-	-	-
<i>A.baumannii</i>	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.freundi</i>	+	-	+	+	+	-	-	d	-	+	d	+
<i>E.cloacae</i>	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	+	-	-	-	-	+	+	-	d	+	+	+
<i>K.oxytoca</i>	d	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>K.pneumoniae</i>	d	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>M.morganii</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>P.mirabilis</i>	+	-	d	+	+	-	-	-	+	+	-	-
<i>P.vulgaris</i>	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Salmonella spp</i>	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>S.marcescens</i>	-	+	+	-	-	-	+	-	+	d	-	+
<i>Ser.liquifaciens</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+
<i>Sh.dysenteri</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sh.sonnei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-

ANNEXE II

Les diamètres de résistance des entérobactéries aux β -lactamines et aux autres familles d'antibiotique

β -lactamines											
CODE	SOUCHES	SYN	AM	AMC	KZ	CTX	CAZ	FEP	ATM	IMP	FOX
CHU01	<i>E. cloacae</i>	–	R/<6	R/10	R/<6	R/12	R/14	S/30	S	S/28	R/9
CHU02	<i>K. pneumoniae</i>	–	R/<6	R/10	R/<6	R/<6	R/15	R/17	R	S/30	S/26
CHU03	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/14	R/<6	R/20	I/25	S/28	S	S/30	S/26
CHU04	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/23	R/<6	R/<6	R/14	R/15	R	S/30	S/28
CHU05	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/16	R/<6	R/12	R/18	R/18	R	S/28	S/30
CHU06	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/15	R/<6	R/<6	R/12	R/14	R	S/30	S/32
CHU07	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/11	R/<6	R/<6	R/14	R/16	R	S/28	S/26
CHU08	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/20	R/<6	R/<6	R/16	R/16	R	S/30	S/32
CHU09	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/15	R/<6	R/12	R/12	R/16	R	S/30	S/28
CHU12	<i>E. coli</i>	+	R/<6	R/16	R/<6	R/<6	R/10	R/8	R	S/28	S/21
CHU13	<i>E. coli</i>	+	R/<6	R/20	R/<6	R/14	I/25	I/20	S	S/28	S/30
CHU14	<i>S. marcescens</i>	+	R/<6	R/8	R/<6	R/<6	R/14	R/12	R	S/26	S/18
CHU15	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/13	I/20	I/15	I/23	S/25	S/30	S	S/28	S/30
CHU16	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/17	R/<6	R/13	I/20	I/20	I	S/30	S/28
CHU18	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/16	R/<6	R/12	R/14	R/16	S	S/34	S/28
CHU19	<i>M. morgani</i>	–	R/<6	R/8	R/<6	I/20	R/16	S/24	S	S/25	S/22
CHU20	<i>Sal. typhimurium</i>	–	R/<6	R/10	R/<6	R/<6	R/<6	I/20	R	S/28	R/14
CHU21	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/16	R/<6	R/10	R/18	R/18	R	S/28	S/26
CHU22	<i>E. coli</i>	+	R/<6	R/14	R/<6	R/13	I/23	I/18	I	S/28	S/26
CHU23	<i>E. cloacae</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	R/<6	R/<6	R/12	R	S/27	R/<6
CHU24	<i>E. coli</i>	–	R/<6	R/10	R/<6	R/<6	R/<8	R/16	R	S/24	R/10
CHU25	<i>E. coli</i>	+	R/<6	I/16	R/<6	R/<6	I/24	I/20	I	S/30	S/32
CHU26	<i>Sal. typhimurium</i>	+	R/<6	I/20	R/<6	I/20	R/10	S/25	I	S/32	S/26
CHU27	<i>E. cloacae</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	R/10	R/14	R/16	R/14	S/25	R/10
CHU28	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/15	R/<6	R/12	R/16	R/18	R/16	S/28	S/25
CHU29	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/20	R/<6	I/23	R/14	I/24	R/16	S/30	S/30
CHU31	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/19	R/<6	R/10	R/14	R/16	R/13	S/30	S/27
CHU32	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/24	R/<6	R/12	R/12	R/14	R/16	S/32	S/28
CHU33	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/19	R/<6	R/14	R/14	R/14	R/17	S/30	S/25
CHU35	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	I/16	R/<6	R/<6	R/<6	R/<6	R/<6	S/27	S/20
CHU37	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/15	R/<6	R/16	R/18	R/21	R/17	S/26	S/28
CHU38	<i>E. coli</i>	+	R/<6	R/16	R/<6	R/12	R/18	R/16	R/15	S/32	S/30
CHU41	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/12	R/<6	R/<6	R/<6	R/8	R/<6	S/30	R/18
CHU42	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/15	R/<6	R/<6	R/<6	R/8	R/<6	S/30	R/17
CHU43	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/30	R/16						
CHU44	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/28	S/20						
CHU45	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/30	R/18						
CHU46	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/29	S/20						

CHU47	<i>M. morganii</i>	-	R/<6	R/<6	R/<6	R/19	R/17	S/32	S/30	S/25	S/18
CHU48	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	R/10	R/16	R/18	R/15	S/30	S/28
CHU50	<i>E. cloacae</i>	-	R/<6	R/10	R/<6	R/<6	R/8	I/24	R/18	S/27	R/<6
CHU52	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/12	R/<6	R/10	R/17	R/14	R/11	S/25	S/25
CHU53	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/15	R/<6	R/12	R/18	R/17	R/18	S/28	S/26
CHU57	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/10	R/<6	R/10	I/20	R/18	R/19	S/26	S/23
CHU58	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/12	R/<6	R/14	I/20	R/19	R/19	S/30	S/26
CHU59	<i>E. coli</i>	+	R/<6	R/14	R/<6	R/10	R/18	R/16	R/18	S/28	S/22
CHU60	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/13	R/<6	R/<6	R/8	R/10	R/9	S/20	S/21
CHU61	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/15	R/<6	R/14	I/20	R/18	I/24	S/25	S/22

Les autres familles										
CODE	SOUCHES	SYN	GM	AK	SXT	NA	CIP	C	FT	CS
CHU01	<i>E. cloacae</i>	-	S/30	S/25	R/<6	S/26	S/40	S/25	R/10	S/20
CHU02	<i>K. pneumoniae</i>	-	R/10	S/22	R/<6	I/18	S/38	R/<6	S/19	S/17
CHU03	<i>K. pneumoniae</i>	+	S/25	S/20	R/<6	S/22	S/29	S/28	S/24	S/28
CHU04	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/10	S/26	I/12	S/27	S/36	S/30	S/26	S/18
CHU05	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	R/<6	R/<6	S/26	S/28	S/17
CHU06	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/11	S/21	R/<6	R/<6	R/<6	S/36	S/25	S/21
CHU07	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/8	I/16	R/<6	S/20	S/28	S/25	R/15	S/16
CHU08	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/8	S/19	R/<6	I/18	I/17	S/30	S/26	S/18
CHU09	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/18	R/<6	S/28	S/28	R/<6	S/24	S/18
CHU12	<i>E. coli</i>	+	R/<6	S/18	R/<6	R/<6	R/<6	S/20	S/18	S/18
CHU13	<i>E. coli</i>	+	S/23	S/21	R/<6	R/<6	R/<6	S/30	R/16	S/17
CHU14	<i>S. marcescens</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	S/24	S/25	S/25	R/10	S/16
CHU15	<i>K. pneumoniae</i>	+	S/22	S/20	R/<6	S/21	S/32	S/30	S/20	S/17
CHU16	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/10	S/18	R/<6	I/14	I/16	S/25	S/17	S/17
CHU18	<i>K. pneumoniae</i>	+	S/25	S/23	R/<6	I/14	R/15	S/25	S/18	S/17
CHU19	<i>M. morganii</i>	-	R/<6	S/18	R/<6	S/26	S/34	S/28	R/12	R/<6
CHU20	<i>Sal. typhimurium</i>	-	S/25	S/25	R/<6	I/14	S/35	S/24	I/15	S/18
CHU21	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/9	S/24	R/<6	S/20	S/29	S/28	S/20	S/17
CHU22	<i>E. coli</i>	+	R/<6	S/22	I/14	R/<6	S/23	S/28	S/27	S/20
CHU23	<i>E. cloacae</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	S/26	S/34	S/24	S/25	S/20
CHU24	<i>E. coli</i>	-	R/12	S/22	R/<6	R/<6	R/13	S/25	S/19	S/15
CHU25	<i>E. coli</i>	+	S/25	S/23	R/<6	R/<6	R/13	R/<6	S/18	S/18
CHU26	<i>Sal. typhimurium</i>	+	S/25	S/22	R/<6	I/17	S/30	S/24	I/15	S/17
CHU27	<i>E. cloacae</i>	+	R/8	S/17	R/<6	R/15	I/18	R/<6	S/17	S/17
CHU28	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/10	S/22	R/<6	S/18	S/34	R/<6	S/18	S/17
CHU29	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/13	R/12	S/25	S/24	S/30	S/27	R/16	S/16
CHU31	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/20	R/<6	R/<6	R/<6	R/<6	S/24	S/20
CHU32	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/10	S/22	S/24	S/23	S/30	S/30	R/15	S/17
CHU33	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/8	S/19	R/<6	S/18	R/16	S/28	S/17	S/17

CHU35	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	S/25	S/32	R/<6	S/19	S/16
CHU37	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/15	R/<6	S/26	S/28	S/28	R/15	S/17
CHU38	<i>E. coli</i>	+	R/<6	R/15	R/<6	S/25	S/33	S/25	S/26	S/20
CHU41	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/11	R/<6	R/<6	R/<6	S/22	R/8	S/18
CHU42	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/11	R/<6	R/<6	R/<6	S/23	R/<6	S/18
CHU43	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	S/20	S/26	R/<6	R/12	S/18
CHU44	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	S/24	S/32	R/<6	S/22	S/17
CHU45	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	S/23	S/32	R/<6	S/20	S/16
CHU46	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/17	R/15	R/<6	S/22	S/32	R/<6	R/15	S/17
CHU47	<i>M. morgani</i>	-	S/27	S/26	S/28	S/24	S/40	S/20	R/16	R/<6
CHU48	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/18	R/<6	R/8	S/28	R/<6	S/21	S/20
CHU50	<i>E. cloacae</i>	-	S/25	S/21	S/30	S/27	S/38	S/28	R/14	S/20
CHU52	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/20	R/<6	S/26	S/32	S/27	S/22	S/21
CHU53	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/10	S/21	R/<6	S/18	S/18	S/26	S/18	S/18
CHU57	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/17	R/<6	R/14	R/16	S/25	S/18	S/19
CHU58	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	S/21	R/<6	S/17	S	S/26	S/20	S/19
CHU59	<i>E. coli</i>	+	S/21	S/21	R/<6	R/<6	S/23	S/23	S/26	S/19
CHU60	<i>K. pneumoniae</i>	+	S/20	S/18	R/<6	R/<6	R/9	S/24	S/21	S/20
CHU61	<i>K. pneumoniae</i>	+	R/<6	R/16	R/<6	S/20	S/23	R/<6	S/17	S/16

Les diamètres de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux β -lactamines et aux autres familles d'antibiotique

Les β -lactamines									
CODE	SOUCHES	SYN	TIC	TCC	PEP	CAZ	FEP	ATM	IMP
CHU34	<i>P. aeruginosa</i>	-	S/25	S/27	S/34	S/27	S/28	S/28	R/11
CHU40	<i>P. aeruginosa</i>	-	R/<6	R/<6	R/14	R/<6	R/14	R/8	R/8
CHU49	<i>P. aeruginosa P1</i>	-	R/<6	R/12	R/11	R/<6	R/15	R/13	S/23
CHU51	<i>P. aeruginosa P6</i>	-	R/17	R/16	R/17	R/15	R/16	I/24	R/10
CHU55	<i>P. aeruginosa P6</i>	-	S/21	S/22	S/32	S/29	S/27	S/27	R/<6
CHU56	<i>P. aeruginosa</i>	-	S	S	S	S/30	S/35	S/35	R/<6

Les autres familles								
CODE	SOUCHES	SYN	GM	AK	TOB	NIT	CIP	CS
CHU34	<i>P. aeruginosa</i>	-	S/20	S/19	S/21	S/18	S/30	S/22
CHU40	<i>P. aeruginosa</i>	-	R/<6	R/<6	R/<6	R/<6	S/34	S/19
CHU49	<i>P. aeruginosa P1</i>	-	S/26	S/25	S/26	S/24	S/34	S/23
CHU51	<i>P. aeruginosa P6</i>	-	S/27	S/25	S/26	S/29	S/38	S/21
CHU55	<i>P. aeruginosa P6</i>	-	S/22	S/23	S/23	S	S/32	S/19
CHU56	<i>P. aeruginosa</i>	-	S/21	S/24	S	S	S/32	S

Les diamètres de résistance des souches d'*Acenitobacter baumannii* aux β -lactamines et aux autres familles d'antibiotique

Les β -lactamines									
CODE	SOUCHES	SYN	TIC	TCC	PEP	CAZ	FEP	ATM	IMP
CHU10	<i>A. baumannii</i>	-	R/<6	R/<6	R/<6	R/<6	R/14	R/16	R/8
CHU11	<i>A. baumannii</i>	-	R/<6						
CHU17	<i>A. baumannii</i>	-	R/12	R/14	R/12	R/10	R/<6	R/<6	S/22
CHU30	<i>A. baumannii</i>	-	R/18	R/18	R/11	R/8	R/10	R/12	S/28
CHU36	<i>A. baumannii</i>	-	R/<6	R/<6	R/<6	R/<6	R/8	R/<6	R/12
CHU39	<i>A. baumannii</i>	-	S/23	S/23	S/21	R/11	I/20	R/16	S/30
CHU54	<i>A. baumannii</i>	+	R/<6	R/<6	R/<6	R/10	R/12	R/13	S/25
CHU62	<i>A. baumannii</i>	+	I/20	I/17	R/13	R/<6	R/13	R/15	S/23

Les autres familles											
CODE	SOUCHES	SYN	GM	AK	TOB	NIT	SXT	CIP	CS	RIF	DOX
CHU10	<i>A. baumannii</i>	-	S/19	R/13	S/25	S/32	R/<6	R/<6	S/16	R	R
CHU11	<i>A. baumannii</i>	-	S	S	R	R	R/<6	R/<6	S	R	R
CHU17	<i>A. baumannii</i>	-	R/12	R/12	R/13	S/31	R/<6	S/23	S/18	R	R/<6
CHU30	<i>A. baumannii</i>	-	R/11	R/10	S/23	S/20	R/14	R/13	S/16	R/8	R/12
CHU36	<i>A. baumannii</i>	-	S/20	R/14	S/32	S/40	R/<6	R/<6	S/19	R/10	R/<6
CHU39	<i>A. baumannii</i>	-	R	R	S/20	S/24	R/<6	S/30	S/17	R/7	R/12
CHU54	<i>A. baumannii</i>	+	R/12	R/11	S/21	S/22	R/<6	R/14	S/18	R	S
CHU62	<i>A. baumannii</i>	+	S/20	S/20	S	S	S/21	S/25	S/19	R	S/20

Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour *Entérobactéries* (CLSI, 2008)

Antibiotiques	Charges (μg)	sensible	intermédiaire	résistante
Ampicilline	30	≥ 17	14 – 16	≤ 13
Amoxicilline+Acide clavulanique	20+10	≥ 18	14 – 17	≤ 13
Céfazoline	30	≥ 18	15 – 17	≤ 14
Céfotaxime	30	≥ 23	15-22	≤ 14
Céfoxitine	30	≥ 18	15-17	≤ 14
Imipénème	10	≥ 16	14-15	≤ 13
Gentamycine	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Amikacine	30	≥ 17	15-16	≤ 14
Acide nalidixique	30	≥ 19	14-18	≤ 13
Ciprofloxacine	5	≥ 21	16-20	≤ 15
Chloramphénicol	30	≥ 18	13-17	≤ 12
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	1.25+23.75	≥ 16	11-15	≤ 10
colistine	50	≥ 15	/	≤ 15
Furane	300	≥ 17	15-16	≤ 14

Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour *A. baumannii* (CLSI, 2008)

Antibiotiques	Charges (μg)	sensible	intermédiaire	résistante
Ticarcilline	75	≥ 20	15-19	≤ 14
Ticarcilline + ac.clavulanique	75+10	≥ 20	15-19	≤ 14
Pipéracilline	100	≥ 21	18-20	≤ 17
Céftazidime	30	≥ 18	15-17	≤ 14
Aztréonam	30	≥ 22	16-21	≤ 15
Imipénème	10	≥ 16	14-15	≤ 13
Gentamycine	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Amikacine	30	≥ 17	15-16	≤ 14
Tobramycine	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Rifampicine	5	≥ 20	17-19	≤ 16
Ciprofloxacine	5	≥ 21	16-20	≤ 15
Doxycycline	30	≥ 16	13-15	≤ 12
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	1.25+23.75	≥ 16	11-15	≤ 10
Colistine	50	≥ 15	/	≤ 15

Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour *P. aeruginosa* (CLSI, 2008)

Antibiotiques	Charges (μg)	sensible	intermédiaire	résistante
Ticarcilline	75	≥ 15	/	≤ 14
Ticarcilline + ac.clavulanique	75+10	≥ 15	/	≤ 14
Pipéracilline	100	≥ 18	/	≤ 17
Céftazidime	30	≥ 18	15-17	≤ 14
Aztréonam	30	≥ 22	16-21	≤ 15
Imipénème	10	≥ 16	14-15	≤ 13
Gentamycine	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Amikacine	30	≥ 17	15-16	≤ 14
Netilmicine	30	≥ 15	13-14	≤ 12
Tobramycine	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Ciprofloxacine	5	≥ 21	16-20	≤ 15
colistine	50	≥ 15	/	≤ 15

ANNEXE III

Composition des milieux de culture (pour 1l d'eau distillée) (Le Minor et Richard, 1993)

Gélose Hektoen		
Protéose peptone	12	g
Extrait de levure	3	g
Chlorure de sodium	5	g
Thiosulfate de sodium	5	g
Sels biliaires	9	g
Citrate de fer ammoniacal	1.5	g
Salicine	2	g
Lactose	12	g
Saccharose	12	g
Fuchsine acide	0.04	g
Bleu de bromothymol	0.065	g
Agar	14	g
pH	7.5	
Gélose Mueller Hinton		
Infusion de viande de bœuf	300	g
Hydrolysate de caséine	17,5	g
Amidon	1,5	g
Agar	17	g
pH	7.4	

Bouillon glucosé tamponné (BGT)		
Peptone	20	g
Extrait de viande	2	g
Chlorure de sodium	2,5	g
Phosphate monopotassique	0,7	g
Phosphate di-sodique	8,3	g
Glucose	4	g
pH	7,7	
Bouillon SFM		
Peptone de viande	5	g
Lactose	4	g
Sélénite de sodium	4	g
Phosphate dipotassique (Merck)	3,5	g
Phosphate monopotassique (Merck)	6,5	g
Sodium phosphate (Difco)	10	g
pH	7,2	
Gélose Mac Conkey		
Peptone de caséine	17	g
Crisal violet	0.001	g
Crisal violet	0.001	g
Rouge neutre	0.03	g
Chlorure de sodium	5	g
Mélange de sels biliaires	1.5	g
Lactose	10	g
Peptone de viande	3	g
pH	7.4	
Gélose TSI		
Extrait de viande de bœuf	3	g
Extrait de levure	3	g
Peptone tryptique	20	g
Chlorure de sodium	5	g
Citrate ferrique	0.3	g

Thiosulfate de sodium	0.3	g
Lactose	10	g
Glucose	1	g
Saccharose	10	g
Rouge de phénol	0.05	g
Agar	12	g
pH	7,4	
Milieu Urée-Indole		
L-tryptophane	3	g
Phosphate monopotassique	1	g
Phosphate bipotassique	1	g
Chlorure de sodium	5	g
Urée	20	g
Alcool à 90°	10	ml
Rouge de phénol	0.025	g
pH	7	
Milieu Clark-Lubs		
Peptone trypsique de viande	5	g
Phosphate bipotassique	5	g
Glucose	6	g
pH	7	
Milieu de Citrate de Simmons		
Citrate de sodium	2	g
Chlorure de sodium	5	g
Sulfate de magnésium	0.2	g
Phosphate monoammoniaque	1	g
Phosphate bipotassique	1	g
Bleu de bromothymol	0.08	g
Agar	15	g
pH	7.0-7.2	
Milieu Moeller		
Peptone pepsique de viande	5	g

Extrait de viande	5	g
Pourpre de bromocrésol	0,01	g
Rouge crésol	0,005	g
Glucose	0,5	g
Pyridoxal	0,005	g
pH	6	
Bouillon Trypticase soja		
Peptone tryptique de caséine	17	g
Peptone papaïnique de soja	3	g
Chlorure de Sodium	5	g
Phosphate bipotassique	2	g
Glucose	2	g
pH	7.3	

Préparation des réactifs

Réactif de TDA		
Soluté de perchlorure de fer $FeCl_3$	10	ml
Eau distillée	20	ml
Réactif de VPI		
α -naphtol	6	g
Alcool à 90° (qsp)	100	ml
Réactif VPII		
NaOH 4N		
Réactif de Kovacs		
Alcool amylique	5	g
Paradiméthylamino-benzaldéhyde	75	ml
HCl pur	25	ml
Réactif de Griess I (NRI)		
Acide parasulfanilique	8	g
Acide acétique 5N	1	l
Réactif de Griess II (NRII)		
α -naphtylamine	6	g
Acide acétique 5N	1	l

Résumé

Au cours de cette étude qui s'est déroulée dans le CHU Beni-Messous de la wilaya d'Alger durant une période allant de novembre 2010 à juin 2011, nous avons recueilli 5197 prélèvements, et au total 509 souches ont été isolées et identifiées, dont 460 sont des entérobactéries, 40 sont des *P. aeruginosa* et 9 sont des *A. baumannii*. 196/509 des souches ont été isolées en pédiatrie et 303/509 des souches ont été isolées dans les urines.

L'étude de la sensibilité de ces souches *vis-à-vis* des β -lactamines à large spectre a permis de sélectionner 62 souches résistantes à ces molécules (% de résistance de 12,18%). 48/62 des souches résistantes sont des entérobactéries, 8/62 sont des *A. baumannii* et 6/62 sont des *P. aeruginosa*, chez les entérobactéries, *K. pneumoniae* est caractérisée par le taux le plus élevé de résistance 39.02%.

70,83% des entérobactéries sont productrices des BLSE de type CTX-M, la résistance à l'imipénème chez *P. aeruginosa* est due à une perte de porine associée ou non à l'hyperproduction des céphalosporinases naturelles et celle de l'*A. baumannii* est due à la production des métallo-carbapénémases et des oxacillinases. Le transfert des gènes *bla*_{CTX-M}, *Bla*_{AmpC} et *bla*_{MBL} par conjugaison n'a été obtenu, contrairement au gène *bla*_{CAZ} qui est parfaitement transféré.

Mots clés : Résistance, β -lactamines, bacilles à Gram négatif, BLSE.

Abstract

During this study which proceeded in the Beni-Messous CHU in Algiers during the period going from November 2010 to June 2011, we collected 5197 swabs, and on the whole 509 stains were isolated and identified, including 460 enterobacteriaceae, 40 are *P. aeruginosa* and 9 are *A. baumannii*. 196/509 strains were isolated in pediatrics and 303/509 strains were isolated in the urine.

The sensibility study of these strains to β -lactam antibiotics, is select 62 strains resistant to these molecules (12.18%). 48/62 are *enterobacteria*, 8/62 are *A. baumannii* and 6/62 are *P. aeruginosa*, among enterobacteria, *K. pneumoniae* is characterized by the highest rate of resistance 39.02%.

70,83% stains of enterobacteria are producing of CTX-M ESBLs. The resistance to imipenem of *P. aeruginosa* is characterized by a loss of porins associated or not to the overproduction of natural céphalosporinases and the resistance of *A. baumannii* to this molecule is characterized by the production of metallo-carbapenemases and oxacillinases. Genes *bla*_{CTX-M}, *Bla*_{AmpC} and *bla*_{MBL} were not transferred, in contrary to the gene *bla*_{CAZ} that perfectly transferred.

Keywords: Resistance, β -lactam antibiotics, Gram negative bacteria, ESBL.

ملخص

خلال دراستنا الممتدة علي مدة 8 اشهر (نوفمبر 2010- جوان 2011) علي مستوي المستشفى الجامعي بني مسوس ولاية الجزائر، تم الحصول علي 5197 عينة، حيث تم عزل 509 بكتيرية من بينها 460 من سلالة الانتيروبيكتيريا، 40 من سلالة البسودوموناس و 9 من سلالة الاسينييتوبكتير بوماني. 196 تم عزلها من جناح الاطفال.

حسب حساسية هذه السلالات بالنسبة الي البييتالاكتامين، 62 سلالة اظهرت مقاومة لهذه الجزيئات بنسبة 12,18٪، من بينها 48 من الانتيروبيكتيريا، 6 من البسودوموناس ايروجينوزا و 8 من الاسينييتوبكتير بوماني. كلاسييلا بنوموني هي الاكثر مقاومة بنسبة 39,02٪.

70,83٪ من الانتيروبيكتيريا مفرزة لانزيمات BLSE من نوع CTX-M. المقاومة للامبيبينام عند البسودوموناس راجع الي فقدان القناة بدون او مع انتاج مفرط للانزيمات من نوع السيفالوسبوريناز، اما بالنسبة للاسينييتوبكتير بوماني فهذا راجع الي افراز للانزيمات من نوع الاكزاسيليناز و الميتالوكربانيماز.

الكلمات المفتاح: المقاومة، البييتالاكتامين، عصيات سلبية الجرام، BLSE.