

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

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



Réf :.....

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

MASTER

Thème

Etude de la sensibilité à la colistine et à d'autres familles
d'antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes
d'origine hospitalière et communautaire .

Présenté par :

AIMENE Hanane et HADDADI Hassiba

Soutenu le : **22 juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mme KERAMANE

Mlle YANAT B.

M TOUATI A.

MAA

MCB

Professeur

Présidente

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

Ce travail n'aurait pu aboutir sans l'aide de nombreuses personnes.

La première personne que nous tenons à remercier et notre promotrice

M^{lle}YANAT, pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un rapport considérable sans le quel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port, pour ces bons explications qui nous ont éclairé le chemin de la recherche et sa collaboration avec nous dans l'accomplissement de ce modeste travail. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leur compétences nous ont tenu dans la poursuite de nos études.

Enfin, en remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail

Merci 

Dédicaces

Avec l'aide du bon DIEU, le tout puissant, ce travail est achevé ;

Je le dédie à toutes les personnes qui me sont chères ;

*Aux deux êtres les plus chers au monde qui ont donné sens à mon existence, et qui m'ont soutenu nuits et jours et durant tout mon parcours. Ma très chère mère qui a consacré sa vie pour bâtir la mienne, je lui serai éternellement reconnaissante, merci **Maman**. Mon très cher père qui m'a donné un magnifique modèle de volonté, et qui m'a toujours gâté, merci **Papa**. Avec mes prières qu'ils soient toujours en bonne santé et à mes côtés.*

A mes chers grands parents

A mon frère Yahia

A mon oncle Rabah

A mes chères cousines Camélia, Farah et Anais

A mes chères tantes et à toute ma famille

A ma binôme : Hassiba

A Hind et Chafia

A tous mes amis sans exception

Hanane

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

Je dédie ce modeste travail

A

A ma très chère mère

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

A mon très cher père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très cher frères : Djamel et Karim

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Pour leur appui et leur encouragement, Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

A mon très cher Bilal

Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

A Mon adorable grande mère

Ta prière m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mes chères ancêtres et ses femmes, mes tantes et mes cousins et cousines : Massilia, Sara, Kenza, Kahina, Nina, zina, Yahia, Yanis

A mes chères amies :

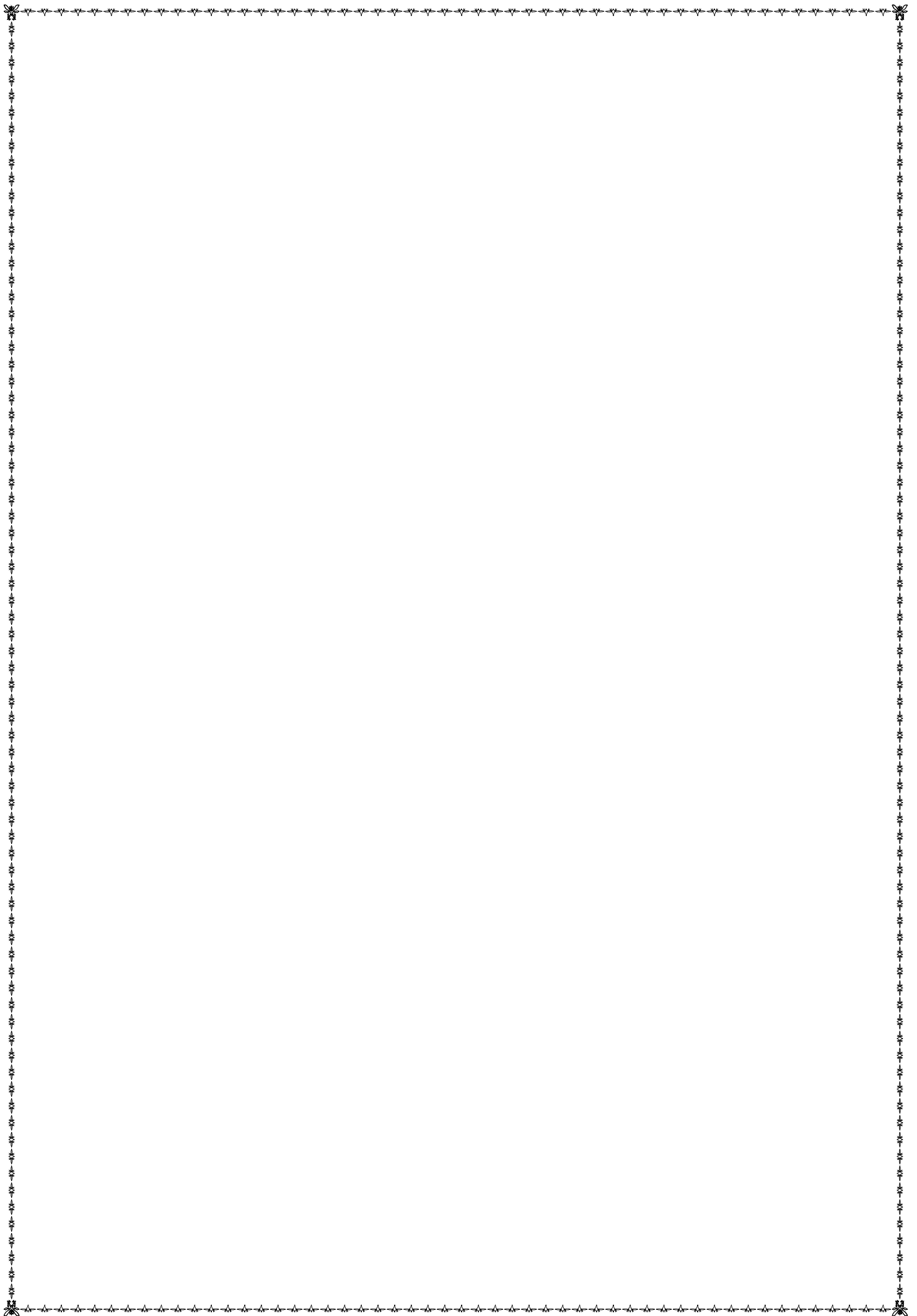
Tamazight, Fatma, Narimane, Souad, Adela, Dilia, Siham, Lamia, Salma, Katia

Mon cher binôme : Hanane ainsi qu'à toute sa famille.

Toute la promotion de MSBV 2017

Tous mes proches de près et de loin

Hassiba



Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction 1

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I Souches bactériennes 9

II Repiquage et confirmation de l'identification des souches bactériennes 9

III Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques 9

III.1 Antibiogramme standard 9

III.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des entérobactéries résistantes à la colistine (CLSI,2015)..... 10

IV Etude des phénotypes de résistance aux β -lactamines 12

IV.1 Recherche la production d'une β -lactamase à spectre étendu (BLSE) 12

IV.2 Recherche de la production de carbapénèmases 12

IV.2.1 Test de Hodge modifié 12

IV.2.2 Test CIM modifié..... 12

IV.2.3 Détection des métallob- β -lactamases (M β Ls)..... 14

V Recherche de l'acétyl transférase modifiée Aac(6')Ib-cr 14

RESULTATS

I. Souches Bactériennes.....	16
I.1. Répartition des souches par espèces	16
I.2. Répartition des souches selon le sexe du patient	16
I.3. Répartition des souches d'entérobactéries selon l'âge et le sexe des patients.	17
I.4. Nombre de souches communautaires et hospitalières.....	17
II. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	18
II.1. Profil de résistance des souches bactériennes.....	18
II.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices à la Colistine	18
III. Détermination des phénotypes de résistance	20
III.1. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines	20
III.1.1. Recherche des β -lactamases à spectre élargie (BLSE).....	20
III.1.2. Recherche des carbapénémases	20
III.1.3. Recherche de méthallo- β -lactamases (MBLs)	21
IV. Recherche de la production de l'acétyl transférase modifiée <i>Aac (6')-Ib-cr</i>	22

DISCUSSION

Discussion générale.....	23
Conclusion.....	27

Liste des références bibliographique

Annexes

Liste des abréviations

AAC : Aminoglycoside acetyltransferases

Arg : Arginine

Asp : Aspartic acid

BCP : bromocresol purple

BES : Brazilian Extended β -lactamase.

BLSE : β -lactamase à spectre élargie.

CLSI : The Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CMS : colistine methanosulfonate

CTX-M : Cefotaximase-Munich

C1G : Céphalosporine de 1 génération.

C2G : Céphalosporine de 2 générations.

C3G : Céphalosporine de 3 générations.

C4G : Céphalosporine de 4 générations..

DD-test: Double Disc test.

EDTA : Ethylene diamine tetra acetic Acid

EMB : Eosine Bleu de Méthylène.

E.P.E.I : Eau péptonée exempte d'indole

EPH : Etablissement public hospitalier

Gélose TSI: Three Sugar Iron.

I β L: inhibiteur de β - Lactamases

IPM: imipénème

KPC : K.pneumoniae carbapénémases.

L-Ara4N : 4-amino-4-déoxy-L-arabinose

LPS : lipopolysaccharide.

mCIM : The Modified Carbapenem Inactivation Method

M βL: métallos- β- Lactamases.

MH : Mueller Hinton.

MHC : Mueller Hinton additionnée à la cloxaciline

Mcr-1 : The mobilized colistin resistance

NDM : New Delhi metallo-bêta-lactamase

NR : Nitrate réductase

OXA : Oxacillinases

PEtN : phosphoéthanolamine

PMQR : Plasmid-mediated quinolones resistance

Qnr : Quinolone resistance.

QRDR : quinolone-resistance determining Regions

RM : Rouge de méthyle.

SHV : Sulfhydryl variable.

SI : Séquence d'insertion.

TEM : Temoneira. (Résistant aux inhibiteurs).

Trp : Tryptophan

Tyr : Tyrosine

VEB: Vietnam Extended spectrum β- Lactamases.

VP: Voges Proskauer

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
Figure 1	Structure de la colistine et du CMS	7
Figure 2	Mécanisme d'action de la colistine.	7
Figure 3	Mécanisme de résistance à la colistine chez les entérobactéries	8
Figure 4	Distribution géographique des souches d'entérobactéries productrices d'une résistance plasmidique à la colistine de type MCR au 1 ^{er} aout 2016	8
Figure 5	Détermination des CMI par la méthode de microdilution au bouillon	11
Figure 6	les étapes du test CIM modifié	13
Figure 7	Profil de résistance des souches aux antibiotiques	18
Figure 8	Résultats des CMI de la colistine sur microplaque	19
Figure 9	Résultat du DD-test de la souche d' <i>E. coli</i> A1531	20
Figure 10	Résultat du test Hodge modifié pour la souche <i>proteus vulgaris</i> (K102).	20
Figure 11	Test m CIM intermédiaire pour la souche (K102)	21
Figure 12	Test d'EDTA négatif pour la souche (K102).	21
Figure 13	Production de l'enzyme Aac(6')Ib-cr pour la souche d' <i>E. coli</i> A1531.	22

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
Tableau I	Fréquence des souches d'entérobactéries	16
Tableau II	Caractéristiques des souches résistantes à la colistine	19
Tableau III	Résultats du test CIM modifié	21
Tableau IV	Résultats de la recherche de la production de l'acétyl transférase Aac(6')Ib-cr	22

Liste des annexes

Annexes	Titres
Annexe I	Composition des milieux de cultures (g/l d'eau distillée)
Annexe II	Différents tests biochimiques d'identification.
Annexe III	Identification des entérobactéries par la galerie API 20 E (BioMerieux)
Annexe IV	les antibiotiques testées et les diamètres d'inhibition édités par la CLSI 2015.
Annexe V	Total des souches collectées au cours de cette étude.
Annexe VI	Résultats de l'identification par la galerie chimique.
Annexe VII	Répartition des souches d'entérobactéries collectées

L'introduction des antibiotiques en thérapeutique a permis de réduire considérablement le taux de mortalité et de morbidité (Carle., 2009). Toutefois, la prescription importante et parfois inappropriée d'antibiotiques a favorisé l'émergence de souches bactériennes résistantes (Pitout et al., 2005).

Les entérobactéries ont su développer différents mécanismes de résistance limitant l'activité des antibiotiques. Ces résistances sont liées à une imperméabilité et/ou un efflux de l'antibiotique, à la production d'enzymes inactivatrices (telles que les β -lactamases et les acétyl transférases), à la modification de la cible (telles que les mutations retrouvées dans la région QRDR du gène *gyrA*) ou à la protection de la cible (telle que la protéine Qnr)(Ruppé et al., 2015, Johnning et al., 2015).

Le début des années 1983 a été marqué par l'émergence et la dissémination globale d'un type de β -lactamases appelé BLSE pour β -lactamases à spectre étendu. Les BLSE de types TEM, SHV et CTX-M font toutes parties de la classe A d'Amber. Les gènes codant pour ces enzymes sont tous portés par des éléments génétiques mobiles sauf *Kluyvera sp*, ce qui explique leur rapidité de dissémination. Aujourd'hui les enzymes CTX-M sont les BLSE les plus répandues dans le monde, notamment les BLSE de type CTX-M-15 (Ruppé.,2010).

Ces dernières années, la prescription des carbapénèmes est devenue de plus en plus fréquente dans le traitement des infections dues aux bactéries productrices de BLSE. Cependant, comme pour toutes les β -lactamines mises sur le marché, des souches résistantes sont apparues (Gall et al., 2011). Chez les entérobactéries, la résistance aux carbapénèmes peut résulter de mécanismes combinés associant des β -lactamases ayant une très faible activité de carbapénémase et une diminution de perméabilité de la membrane externe, ou de la présence de véritables carbapénémases. Ces dernières peuvent être divisées en trois classes selon Amber : la classe A telles que les KPC-2 chez *Klebsiella pneumoniae*, la classe B de type métallobetalactamase telles que les NDM-1 chez *Escherichia coli*, ou encore la classe D de type oxacillinase telles que les OXA-

48 les BLSE de types CTX-M-48 chez *K. pneumoniae* et *E. coli* (Nordmann et al., 2010).

La résistance plasmidique aux quinolone (PMQR) a été décrite pour la première fois en 1998 (Martinez-Martinez et al., 1998). Il s'agissait de la protéine Qnr qui agit par protection de la cible. A ce jour, six grands groupes de déterminants Qnr ont été décrits: *QnrA*, *QnrB*, *QnrS*, *QnrC*, *QnrD* et *QnrVC* (Martinez-Martinez et al.,1998; Jacoby et al.,2006; Hata et al.,2005; Wang et al.,2009; Cavaco et al., 2009; Xia et al., 2010 et Fonseca et al., 2013). Un autre déterminant de la résistance plasmidique aux quinolones, l'aminoglycosyl acétyl transférase Aac(6')-Ib-cr, qui de par ces deux substitutions en acides aminés Trp102Arg et Asp179Tyr, hydrolyse les aminosides (tobramycin, amikacin et kanamycin), mais aussi les fluoroquinolones hydrophiles (norfloxacine et ciprofloxacine) (Robicsek et al., 2006). Enfin, les pompes d'efflux d'origine plasmidique QepA et OqxAB, expulsant l'antibiotique à l'extérieur de la cellule bactérienne (Yaman et al., 2007; Hansen et al., 2007).

Face à l'émergence de bactéries multi-résistantes et le manque de nouveaux antibiotiques sur le marché visant à les combattre, on assiste ces dernières années à un regain d'intérêt pour l'utilisation des polymyxines, ancienne classe d'antibiotiques cationiques polypeptidiques cycliques décrite en 1947 (Falaguas et al., 2005). Cette famille d'antibiotiques compte cinq membres soit les polymyxines A à E. Cependant, seules les polymyxines B et E sont utilisées en médecine humaine et/ou vétérinaire (Hermsen et al., 2003).

La polymyxine E aussi appelée colistine est synthétisée par la bactérie *Bacillus polymyxa.colistinus* a était largement utilisée en médecine humaine durant les années 1960s pour le traitement des infections dues aux bactéries à Gram négatif pendant deux décennies (années 1960 et 1970). Cependant, dû à un fort taux de toxicité chez l'homme, la colistine fut vite remplacée au début des années 1970 (Falaguas et al., 2005).

En médecine vétérinaire, la colistine est utilisée en tant qu'antibiotique de première intention pour le traitement des infections digestives à germes sensibles à la colistine tels que *E. coli* et *Salmonella* chez les jeunes animaux de production (porcs, volailles et veaux majoritairement, mais aussi agneaux et chevreaux) et les équidés (Prescott et Dowling, 2013; Guardabassi et al., 2008).

Il existe deux formes de colistine disponibles : le sulfate de colistine et le CMS (colistine méthanosulfonate) qui est la formulation parentérale disponible dans le commerce, du fait de sa toxicité moindre. La CMS est une prodrogue inactive de la colistine (Bergen et al., 2006), en solution aqueuse, celui-ci s'hydrolyse spontanément en colistine (forme active) (Yahav et al., 2012).

La colistine est un antibiotique peptidique ayant un poids moléculaire d'environ 1750 Da. Elle est constituée d'un décapeptide (10 acides aminés) qui contient trois acides aminés soit la D-leucine, la L-thréonine et l'acide L- α , γ -diaminobutyrique (DAB). Sur le dernier DAB, on retrouve un lien amine qui le relie à un acide gras (Katz et Demain 1977; Storm et al. 1977; Falagas et al., 2005). Cet acide gras varie en fonction du type de colistine : un 6-méthylheptanoyle dans le cas de la colistine A ou un 6-méthylheptanoyle dans le cas de la colistine B (Bergen et al., 2012). La structure de la colistine méthanosulfonate est très proche de la structure de la colistine, les groupements amines (NH₂) sont liés à des groupements méthyle, sulfonate et sodique. Ces modifications la rendent moins toxique (Vaara., 2010). La structure de la colistine et de la CMS sont présentées dans la **figure 1**.

La partie cyclique de la colistine constitue la partie hydrophile tandis que la chaîne d'acide gras est hydrophobe. Les groupements NH₂ qui sont liés à l'acide L- α , γ -diaminobutyrique, portent des charges positives responsables de l'action de la colistine sur la membrane de la bactérie (Falagas et al., 2005).

La colistine possède une activité bactéricide contre les bactéries à Gram négatif, plus précisément les entérobactéries à l'exception des genres *Proteus spp*, *Serratia spp*, *Providencia spp* et *Morganella morganii* où la résistance est naturelle (Falagas et al., 2010). La colistine lie les lipopolysaccharides (LPS) grâce à ses charges positives, le LPS étant chargé négativement, il y a interaction et liaison de ces deux composés. Cette interaction provoque un déplacement des cations divalents Mg²⁺ et Ca²⁺ qui assurent avec les protéines, la cohésion et l'intégrité de la membrane externe de la paroi des bactéries à Gram négatif.

La partie hydrophobe de la molécule interagit ensuite avec le lipide A du LPS, et l'insertion de la molécule dans la membrane externe provoque sa déstabilisation. Ultérieurement, la colistine, toujours en raison de ses propriétés cationiques, se fixe sur les groupements phosphates des phospholipides de la membrane cytoplasmique. Il y a alors un arrêt de la respiration, une augmentation

de la perméabilité membranaire, une fuite des constituants cellulaires, une libération d'enzymes lytiques aboutissant à la lyse cellulaire (**figure 2**) (Clausell et al., 2007, Falagas et al., 2005).

La colistine possède également une activité anti-endotoxine. L'endotoxine des bactéries à Gram négatif correspond au lipide A du LPS. En se liant au lipide A par sa partie hydrophobe, la colistine neutralise le LPS et son action endotoxinique (Gupta et al., 2009).

Afin de contrecarrer l'action de la colistine, plusieurs bactéries ont développé différents mécanismes de résistance à la colistine. Les stratégies adaptatives des bactéries à Gram négatif incluent donc l'altération de leur LPS qui constitue, en effet, la première cible de la colistine par l'addition de la phosphoéthanolamine (PEtN) et de la 4-amino-4-déoxy-L-arabinose (L-Ara4N), sur les groupements phosphate du lipide A (Falagas et al., 2010; Olaitan et al., 2014), entraînant ainsi une augmentation de la charge positive du LPS, et par le fait même, une diminution de l'affinité pour la colistine (Jayol et al., 2014). D'autres stratégies incluent la surexpression de la pompe d'efflux (AcrRAB) et la formation d'une capsule chez *K. pneumoniae* (Padilla et al., 2010; Campos et al., 2004).

Ce type de modifications chimiques sur le lipide A est souvent associé à des mutations ponctuelles dans certains gènes situés dans le chromosome (Cannatelli et al., 2013) impliquant le système à deux composants *pmrAB* chez *Salmonella* (Gunn, 2008), le gène *phoPQ* et le régulateur *mgrB* chez *K. pneumoniae* (Cannatelli et al., 2013) (voir **figure 3**).

Tout récemment, en novembre 2015, le premier cas de résistance à la colistine d'origine plasmidique a été décrit par Liu et al.. Il s'agissait du gène *mcr-1* codant pour la phosphoéthanolamine transférase rapporté chez des souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* isolées entre 2011 et 2014 chez des porcs et des poulets (Liu et al., 2016). Depuis, les publications rapportant la présence du gène *mcr-1* ne cessent d'augmenter. A la date du 09 juin 2017, 191 articles peuvent être retrouvés sur la base de données pubmed en tapant les mots clés: *mcr-1*, résistance, colistin

La résistance plasmidique à la colistine a été décrite dans pas moins de 18 pays (voir figure 4 répartition géographique des souches *mcr-1* positives) et ce chez différentes espèces d'entérobactéries : *E. coli* (Liu et al., 2016, Hasman et al., 2015, Ye et al., 2016), *Salmonella enterica* (Hu et al., 2016), *K. pneumoniae* (Liu et al., 2016), *Enterobacter aerogenes* et

Enterobacter cloacae (Zeng et al., 2016) d'origine humaine, animale ou environnementale. En effet, le gène *mcr-1* a été retrouvé chez des souches d'entérobactérie d'origine clinique et communautaire (Yanat et al., 2016; Baron et al., 2017; Huang et al., 2017), à partir d'animaux destinées à la consommation tels que la volaille (Hu et al., 2016), le porc (Liu et al., 2016; Hu et al., 2016; Gao et al., 2016) et le bovin (Hu Y et al., 2016) et à partir d'animaux de compagnie comme le chien (Zhang et al., 2016). En outre, le gène *mcr-1* a été identifié à partir de souches isolées de l'environnement provenant d'eau des rivières et d'échantillons de légumes importés en Suisse (Yang et al., 2017; Zurfeh et al., 2016).

Dans une certaine mesure, la propagation mondiale du gène *mcr-1* pourrait être liée à une voie de diffusion basée sur la chaîne alimentaire, ce qui a été démontrée par une équipe de chercheurs chinois après le séquençage complet du gène du *mcr-1* issu d'échantillons de viande et de nourriture qui était 100% identique à celui issu du microbiote humain sain (Hu et al., 2016).

De plus, ce qui est le plus inquiétant est que le gène *mcr-1* est souvent associé à des gènes de résistance à d'autres familles d'antibiotiques telles que les gènes codant pour les carbapénèmes de type KPC et OXA-48 chez une souche d'*E. coli* (Beyrouthy et al., 2017), le gène codant pour une BLSE chez une souche de *K. pneumoniae* (Caspar et al., 2017) ainsi que les gènes codant pour la résistance plasmidique aux quinolones *oqxAB* et *aac(6')Ib-cr* chez des souches de *Salmonella* (Li et al., 2016).

Très récemment, une nouvelle variante du gène de résistance plasmidique à la colistine a été rapportée, il s'agit du gène *mcr-2* porté sur le plasmide IncX4. Ce gène a été décrit pour la première fois en Belgique chez une souche d'*E. coli* d'origine porcine et bovine. Ce gène présente environ 76,7% d'identité nucléotidique (81% d'acides aminés) avec le gène *mcr-1* avec un plus haut niveau de résistance à la colistine (Xavier et al., 2016).

En Algérie, une étude antérieure a montré la présence du gène *mcr-1* chez une souche de *E. coli* isolée à partir de poulet en 2015 (Olaitan et al., 2016). Depuis, deux autres études ont rapporté la présence de ce gène chez des souches cliniques d'*E. coli* isolées en 2011 à Sidi Belabess et à Oran (Berrazeg et al., 2016; Yanat et al., 2016).

Dans le ce contexte, l'objectif de ce travail était d'une part d'étudier la sensibilité à la colistine et à d'autres familles d'antibiotiques chez des souches d'entérobactéries isolées à partir de prélèvements urinaires d'origine hospitalière et communautaire, et d'autre part de déterminer les phénotypes de résistance.

Ainsi, nous avons suivi la méthodologie suivante :

- Collecte de souches d'entérobactéries au niveau des laboratoires d'analyse médicale de Béjaia (Dr Kebiche, Dr Moualak, Dr Lalaoui et Dr Djama) et au niveau de l'hôpital d'Amizour.
- Confirmation de l'identification de ces souches.
- Tests de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme, détermination des CMI de la colistine).
- Etude des phénotypes de résistance aux β -lactamines (DD-test, test Hodge modifié, test mCIM, test d'EDTA)
- Etude des phénotypes de résistance aux fluoroquinolones (recherche de l'acétyl transférase modifiée Aac(6')Ib-cr).

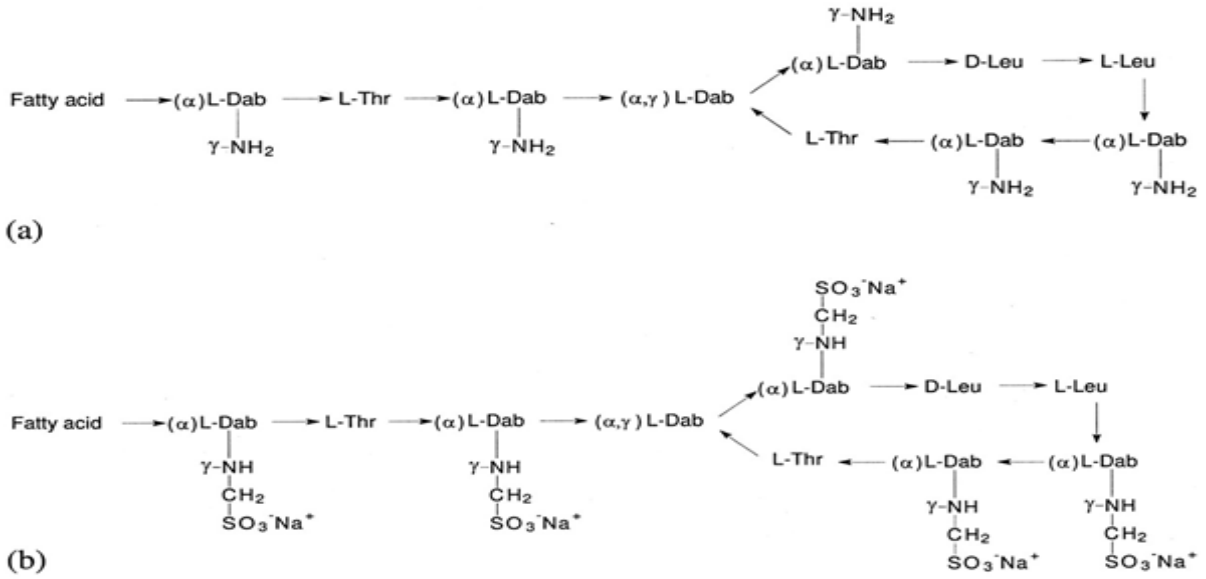


Figure 1 : Structure de la colistine (a) et du CMS (b) (Falagas et al., 2005)

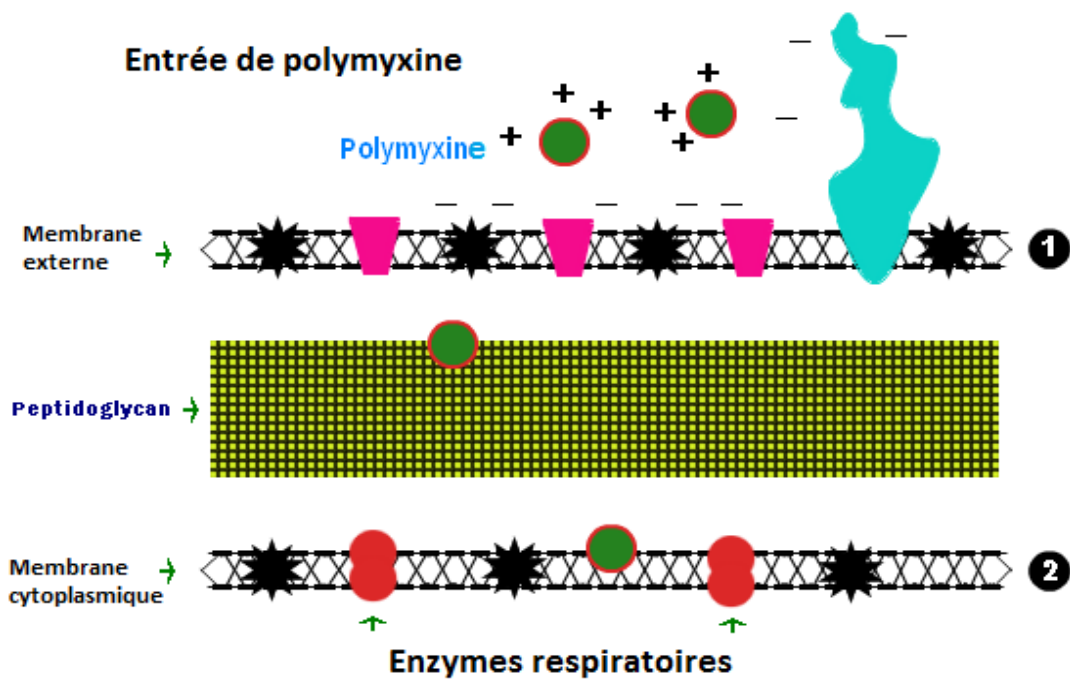


Figure 2 : Mécanisme d'action de la colistine .

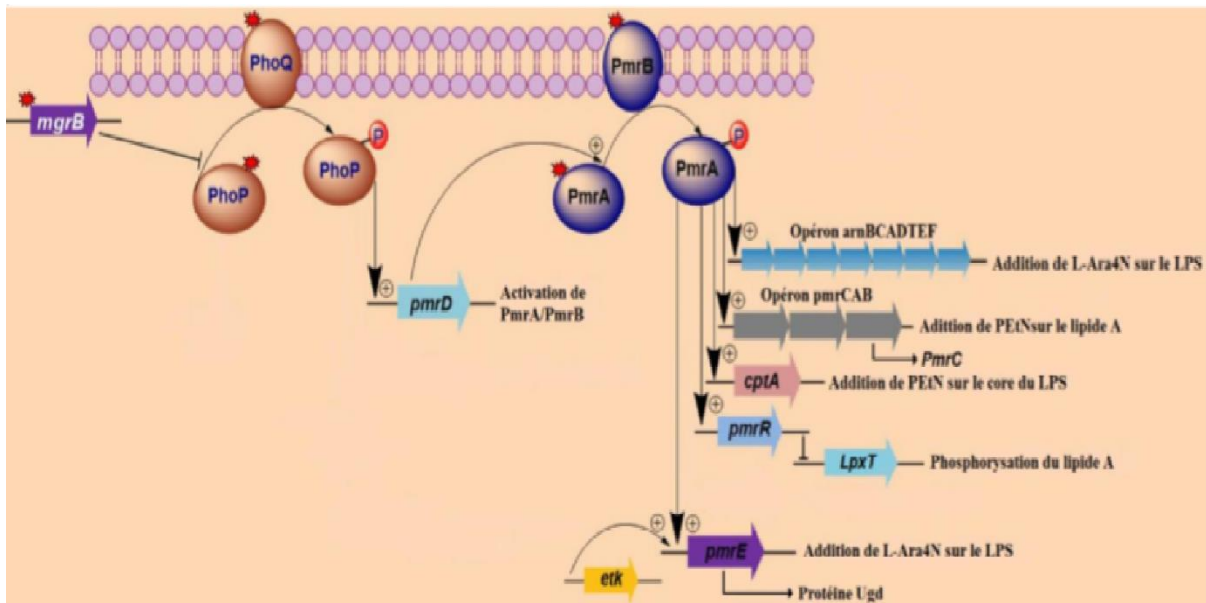


Figure 3 : Mécanisme de résistance à la colistine chez les entérobactéries (Dortet et al., 2016).

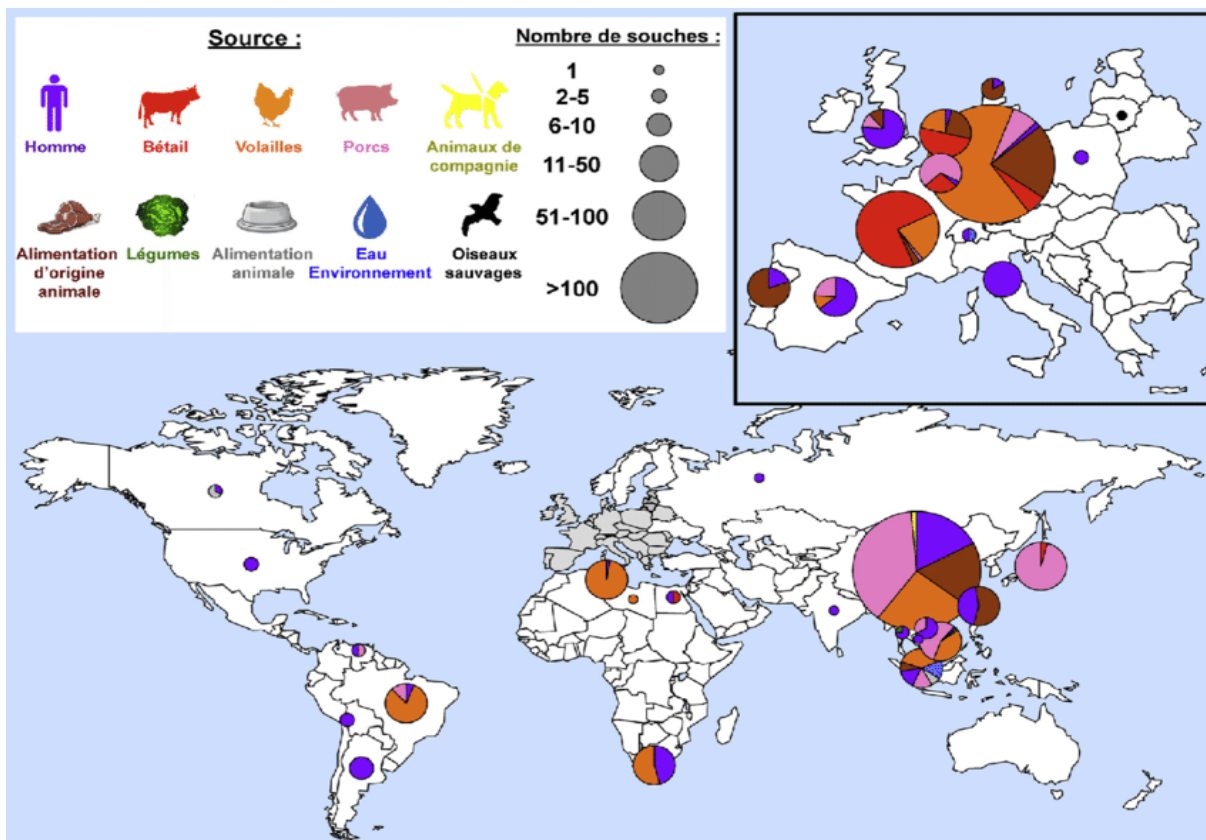


Figure 4 : Distribution géographique des souches d'entérobactéries productrices d'une résistance plasmidique à la colistine de type MCR au 1^{er} aout 2016 (Dortet et al., 2016).

I. Souches bactériennes

Des souches d'entérobactéries d'origine urinaire ont été collectées au niveau d'EPH d'Amizour et au niveau de quatre laboratoires d'analyses médicales privés de la willaya de Béjaia durant une période de trois mois allant de Février à Mai 2017.

Pour chaque souche, les données suivantes ont été recueillies :

- Les données concernant le patient : âge, sexe, hospitalisation actuelle ou récente, grossesse éventuelle.
- La présence de pathologies préexistantes : diabète, immunodépression, anomalie de l'appareil urinaire, infection urinaire récidivante.
- L'existence d'un traitement antibiotique ou chimiothérapeutique récent ou en cours.
- La date du prélèvement
- L'identification
- Antibiotiques testés (sachant que la colistine est prescrite au niveau de l'EPH d'Amizour).

II. Repiquage et confirmation de l'identification des souches bactériennes

Les souches collectées ont été repiquées sur des milieux sélectifs pour les entérobactéries (gélose Mac conkey, Hektoen, BCP, EMB). La composition de ces milieux est donnée en **annexe I**.

Pour confirmer l'espèce ou le genre auquel les souches appartiennent, une deuxième identification a été effectuée en se basant sur :

- Les caractères cultureux : l'aspect et la taille des colonies.
- La galerie biochimique : les différents tests sont résumés dans **l'annexe II**.
- La galerie API 20 E (BIOMERIEUX®) (voir **annexe III**)

III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

III.1. Antibiogramme standard

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été testée par la technique de l'antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller-Hinton selon les recommandations du CLSI 2015 (The Clinical and Laboratory Standards Institute). L'interprétation en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R), a été effectuée selon les critères définis par le CLSI 2015

Les différents antibiotiques testés sont donnés dans l'**annexe IV**.

III. 2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des entérobactéries résistantes à la colistine (CLSI, 2015)

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible. La CMI de la colistine (Koolmete® 1 million UI) a été effectuée par la méthode de microdilution en milieu liquide. Cette méthode consiste en les étapes suivantes :

- **Préparation de la microplaque:**

50 µl de bouillon de Mueller-Hinton (MHB) ont été distribués dans les 96 microcupules que contient la microplaque.

- **Dilution:**

A partir d'une solution mère de colistine à 64 mg/L, 50 µl ont été prélevés puis mélangés aux 50 µl de MHB contenu déjà dans la première cupule. Par la suite, 50 µl du contenu de la première cupule ont été prélevés puis déposés dans la cupule adjacente et ainsi de suite. Ces dilutions permettent d'obtenir des concentrations décroissantes d'antibiotiques (de 32 à 0,03 mg/L). Une rangée de cupules ne contenant pas d'antibiotique est utilisée comme témoin pour vérifier l'inoculum bactérien. La souche de *E. coli* ATCC 25922 (sensible à la colistine) et une souche de *Proteus mirabilis* (résistante naturellement à la colistine) ont été utilisées comme témoin négatif et positif respectivement.

- **Ensemencement:**

A partir d'une suspension bactérienne standardisée d'environ 10^7 UFC/ml, 50 µl ont été déposés dans toutes les cupules. La microplaque est ensuite incubée à 37°C pendant 18H.

- **Lecture:**

La plus faible concentration d'antibiotiques qui inhibe la croissance bactérienne représente la CMI. Les résultats ont été interprétés selon les recommandations de la CLSI, 2015.

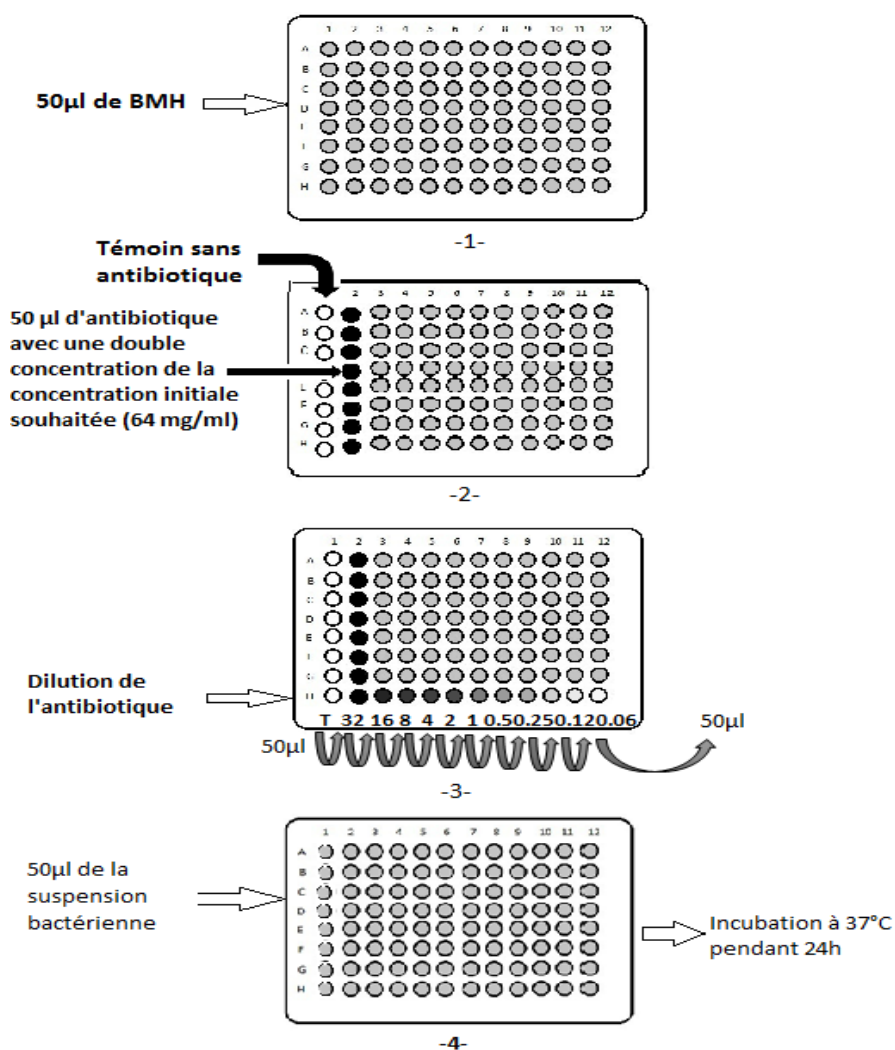


Figure 5 : Détermination des CMI par la méthode de microdilution au bouillon

IV. Etude des phénotypes de résistance aux β -lactamines

IV.1 Recherche la production de β -lactamase à spectre étendu (BLSE)

La production d'une BLSE est recherchée par le test de synergie (DD-test) qui consiste à placer des disques de céftazidime (CAZ), céfotaxime (CTX), aztréonam (ATM) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque amoxiciline-acide clavulanique (AMC). L'observation d'une image de synergie entre le disque AMC et les disques de CAZ, CTX, AZT indique la production d'une BLSE (Jarlier et al., 1988).

IV. 2. Recherche de la production de carbapénèmases

IV. 2.1 Test de Hodge modifié

Le test de Hodge modifié est un test phénotypique pour la recherche de la production de carbapénèmases chez les souches résistantes ou de sensibilité diminuée à l'imipénème. Ce test consiste à ensemencer la souche d'*E.coli* ATCC 25922 (sensible à tous les antibiotiques) sur une gélose Mac Conkey. Ensuite, un disque d'imipénème (10 μ g) est déposé au centre de boîte et chaque souche testée est ensemencée de manière radiale à partir du disque jusqu'au bord de la boîte de Pétri. Après incubation pendant 18h à 37°C, la présence d'une distorsion de la zone d'incubation autour du disque d'imipénème au contact de la souche testée est interprétée comme un résultat positif (Lee et al., 2010).

IV. 2.2 Test de CIM modifié

Une nouvelle méthode phénotypique pour la recherche de la production de carbapénèmases, la méthode d'inactivation de carbapénèmes (Carbapenem Inactivation Method, CIM). Ce test permet de détecter la production de carbapénémase même à faible activité (exemple OXA-48). Ce test consiste en les étapes suivantes :

- Quelques colonies bactériennes de la souche à tester ont été ajoutées dans un tube contenant 2 ml de bouillon de soja tripyptique (TSB).
- Ensuite, un disque de méropénème (MEM) de 10 μ g a été ajouté dans la suspension bactérienne.
- Le tube a ensuite été incubé pendant 4 heures à 37°C.

- Après incubation, le disque de MEM a été retiré de la suspension et placé sur une boîte de gélose Mueller-Hinton préalablementensemencée par la souche de référence *E. coli* (ATCC 25922). La boîte et par la suite incubée pendant 24h à 37° C (voir figure 6).

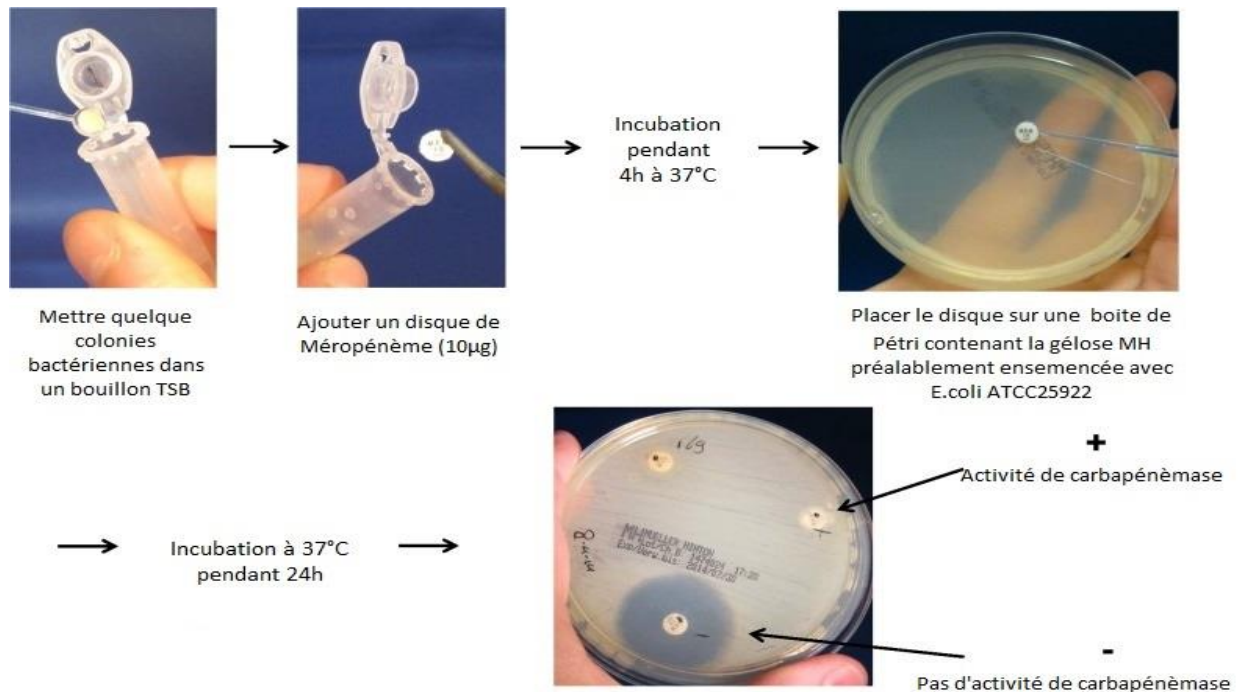


Figure 6 : les étapes du test CIM modifié

Si la souche bactérienne est productrice de carbapénémase, le MEM contenu dans le disque sera dégradé par la carbapénémase, ce qui se traduit par une croissance de la souche d'*E. coli* (ATCC 25922) tout autour du disque. En revanche, si la souche à tester ne produit pas de carbapénémase, le MEM conserve son activité antimicrobienne après incubation, ce qui donne une zone d'inhibition claire.

La zone d'inhibition est mesurée pour déterminer si la souche est productrice de carbapénémase :

- 6-15 mm : résultat positif.
- 16-18 mm : résultat indéterminé (nécessitant d'autres tests pour établir la présence ou l'absence de production de carbapénémase).
- ≥ 19 mm : résultat négatif (Pierce et al., 2017).

IV. 2.3 Détection des métallo- β -lactamases (M β Ls)

La recherche des M β L a été effectuée en utilisant comme inhibiteur une solution d'EDTA à 0.5 M pH 8. Cette dernière joue le rôle de chélateur des ions de zinc essentiels pour l'activité des M β L.

➤ Méthode des disques combinés

- Deux disques d'imipénème (IPM) (10 μ g) ont été déposés suffisamment distant sur la même boîte de Pétri contenant la gélose MH préalablement ensemencée avec la souche à tester, l'un des disques est utilisé comme témoin et sur l'autre un volume de 5 μ l de la solution d'EDTA (750 μ g d'EDTA) est ajouté.
- Les diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques sont mesurés et comparés après 18h d'incubation à 37°C. Les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque IPM-EDTA est supérieur à celui obtenu avec le disque d'IPM seul d'au moins 6 mm sont considérées comme des souches productrices de M β L (Yong et al., 2002).

➤ Méthode de synergie

Le test de l'EDTA-disque synergie est réalisé en utilisant un disque de IPM (10 μ g) et un disque vierge imbibé avec 10 μ l de la solution d'EDTA (1500 μ g d'EDTA) distant de 15 mm (bord à bord). Après 18h d'incubation à 37°C, la présence d'une M β L est détectée par la visualisation d'une image de synergie entre le disque d'imipénème et celui d'EDTA (Jeong et al., 2006).

V. Recherche de l'acétyl transférase modifiée Aac(6')Ib-cr

Un test phénotypique permet de rechercher la production de l'enzyme Aac(6')Ib-cr hydrolysant les aminosides et les fluoroquinolones hydrophiles (norfloxacine et ciprofloxacine). Ce test consiste en les étapes suivantes:

- Les souches à tester ont été cultivées dans des tubes de bouillon Mueller Hinton contenant une concentration de ciprofloxacine (CIP) de 8mg/L. Un tube contenant la

souche de *E. coli* ATCC 25922 (non productrice de Aac(6')Ib-cr) a été utilisée comme témoin négatif.

- 10 µl de chaque milieu de culture ont été déposés sur un disque blanc sur une boîte de gélose Mueller Hinton préalablementensemencée avec *E. coli* ATCC 25922 et incubées pendant 24h à 37°C.
- Les diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques ont été mesurés et comparés avec le diamètre obtenu avec la souche témoin négatif. S'il y a réduction de 10mm de diamètre, la souche est considérée comme productrice de l'enzyme Aac(6')Ib-cr (Wachino et al., 2011).

I. Souches Bactériennes

Durant une période allant du 05/02/2017 au 05/05/17, 137 souches d'entérobactéries uropathogènes ont été collectées (**annexe V**). Les résultats de l'identification de ces souches selon les caractéristiques biochimique sont donnés en **annexe VI**

I.1. Répartition des souches par espèces

E. coli était l'espèce la plus fréquente avec un taux de **71,53%** suivie des espèces du genre *Klebsiella sp* avec un taux de **14,60%**, et de *Proteus sp* avec un taux de **10,22%**. Les fréquences des souches d'entérobactéries sont représentées dans le tableau I

Tableau I: Fréquence des souches d'entérobactéries.

Espèces isolées	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella sp</i>	<i>Proteus sp</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Morganella morganii</i>	Total
Nombre de souches	98	20	14	04	01	137
Pourcentage (%)	71,53	14,60	10,22	2,92	0,73	100

II. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

II.1. Profil de résistance des souches bactériennes aux antibiotiques

La figure 7 ci-dessous montre le taux de résistance des souches aux différents antibiotiques testés. Le taux de résistance le plus élevé a été enregistré chez l'acide nalidixique (32,76%) de la famille des quinolones, le taux le plus faible été de 1% pour l'imipinème. Et un taux de 4,38% pour la colistine.

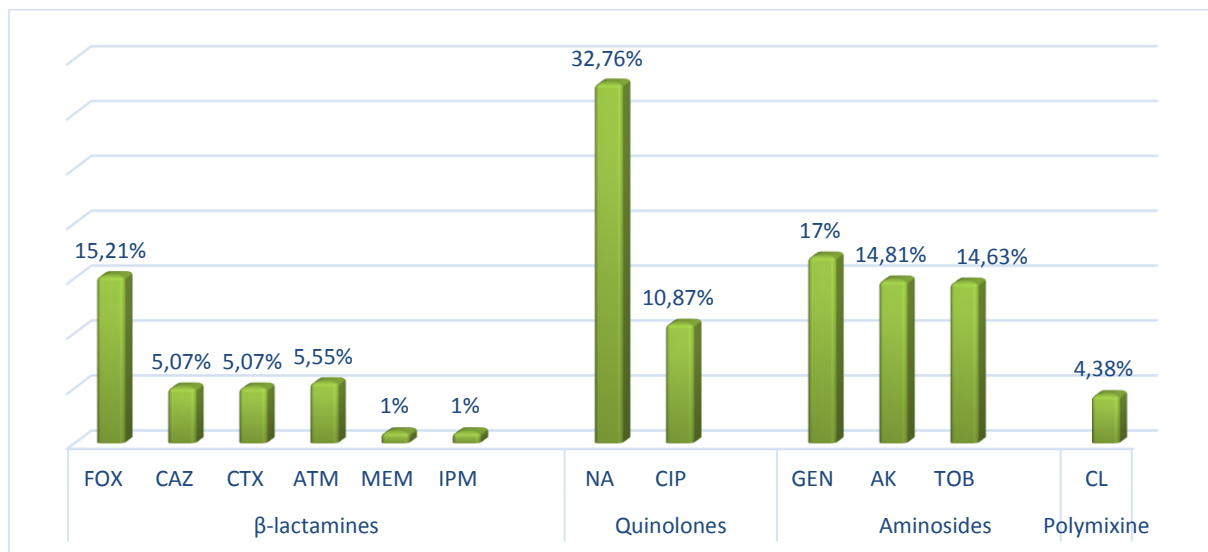


Figure 7 : Profil de résistance des souches aux antibiotiques

II. 2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices de la colistine

Les résultats de la détermination des CMI de la colistine par la technique de microdilution en milieu liquide ont montré que 5 souches d'*E.coli* et 1 souche de *Klebsiella* sp était résistantes à la colistine avec des de CMI entre 4 µg/ml et 8 µg/ml. Dans la figure 10, les résultats de la technique de microdilution en milieu liquide. Les caractéristiques des souches d'entérobactéries résistantes à la colistine sont résumées dans le tableau III.

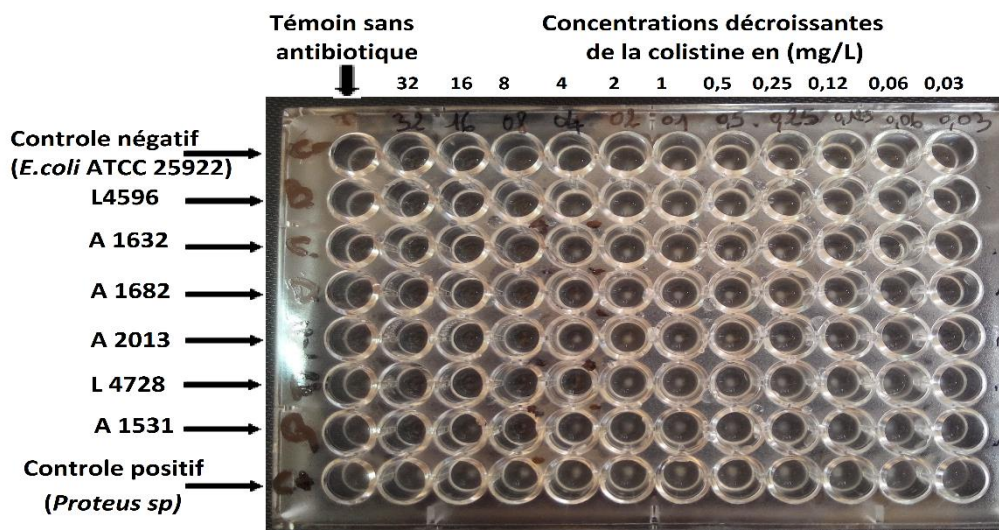


Figure 8 : Résultats des CMI de la colistine sur microplaque

Tableau II: Caractéristiques des souches résistantes à la colistine

Code de la souche	Espèce	CMI de la colistine (µg/ml)	Date du prélèvement	Sexe	Age	Laboratoire
Control négatif (ATCC 25922)	<i>E. coli</i>	2	/	/	/	/
L4596	<i>Klebsiella sp</i>	4	16.03.2017	Féminin	Adulte	Dr. Lalaoui
A1632	<i>E. coli</i>	8	12.03.2017	Féminin	Adulte	EPH Amizour
A1682	<i>E. coli</i>	4	13.03.2017	Féminin	Adulte	EPH Amizour
A2013	<i>E. coli</i>	8	28.03.2017	Féminin	50 ans	EPH Amizour
L4728	<i>E. coli</i>	4	20.03.2017	Féminin	Adulte	Dr. Lalaoui
A1531	<i>E. coli</i>	8	06.03.2017	Féminin	7 ans	EPH Amizour
Control positif (L9508)	<i>P. mirabilis</i>	>32	14.04.2017	Féminin	02 ans	Dr. Lalaoui

III. Détermination des phénotypes de résistance

III.1. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines

III.1.1 Recherche des β -lactamases à spectre élargie (BLSE)

L'image de synergie est traduite par l'augmentation des diamètres des zones d'inhibition autour des disques céfotaxime, céftazidime, céfépime, ou aztréonam en présence de l'acide clavulanique qui inhibe la BLSE produite par les souches résistantes.

Parmi les 08 souches résistantes à la céfotaxime et/ou céftazidime testées, 04 présentés une image de synergie indiquant ainsi la production d'une BLSE. Il s'agit des souches de 2 souches de *E. coli* (A1531) et (K1327) et de 2 souches de *Klebsiella* sp (L4414) et (A442) (Figure 11).

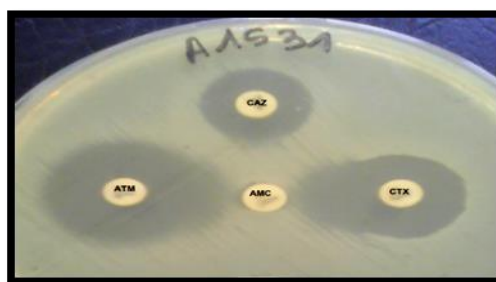


Figure 9 : Résultat du DD-test de la souche d'*E. coli* A1531

III.1.2 .Recherche des carbapénémases

Dans le cas test de Hodge modifié, un résultat positif est traduit par une distorsion de la zone d'inhibition à l'intersection entre une strie et la culture d'*E. coli* ATCC 25922. Selon nos résultats, parmi les deux souches résistantes à l'imipénème testées, seule la souche de *Proteus vulgaris* (K102) a présenté une légère distorsion de la zone d'inhibition (figure 12). Ce qui indique que cette souche est probablement productrice de carbapénémase.

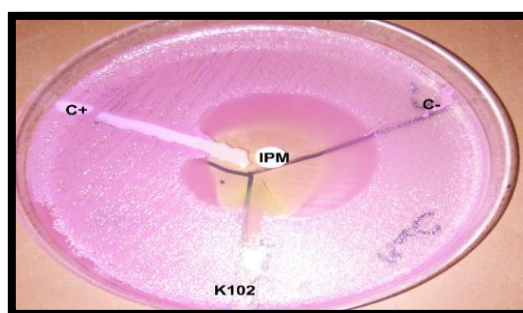


Figure 10 : Résultat du test Hodge modifié pour la souche *proteus vulgaris* (K102).

Pour ce qui est du test de CIM modifié, seule la souche de *Proteus vulgaris* (K102) a présenté un résultat intermédiaire avec un diamètre de 18mm. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau IV ci-dessous.

Tableau III : Résultats du test CIM modifié

Le code	La souche	Le diametre de la zone d'inhibition	L'interprétation
K 102	<i>Proteus vulgaris</i>	18mm	résultat indéterminé
M DJ92	<i>E.coli</i>	19mm	résultat négatif



Figure 11 : Test m CIM intermédiaire pour la souche (K102)

III.1.3 Recherche de méthallo- β -lactamases (MBLs)

La souche *P. vulgaris* (K102) résistante à l'imipénème a été testée sur gélose Muller-Hinton pour la production d'une métallob- β -lactamase. Cette souche n'a pas présenté d'une image de synergie, ce qui suggère qu'elle ne produit de métallob- β -lactamase (figure 14).



Figure 12 : Test d'EDTA négatif pour la souche (K102).

III. 2. Recherche de la production de l'acétyl transférase modifiée Aac (6')Ib-cr

Les souches testées pour la recherche de l'enzyme Aac(6')Ib-cr étaient résistantes à la ciprofloxacine et aux aminosides. Parmi lesquelles, une souche a montré un résultat positif avec un diamètre de 12mm. Il s'agit de la souche d'*E. coli* A1531 (tableau V, figure 15).

Tableau IV: Résultats de la recherche de la production de l'acétyl transférase Aac(6')Ib-cr

Souche	Espèce	Le diamètre d'inhibition	Interprétation
ATCC25299 (Control -)	<i>E.coli</i>	21 mm	Résultat négatif
A1531	<i>E.coli</i>	12 mm	Résultat positif
A1637	<i>M.morganii</i>	20 mm	Résultat négatif
M6215	<i>E.coli</i>	20 mm	Résultat négatif
M11412	<i>E.coli</i>	21 mm	Résultat négatif
M11356	<i>E.coli</i>	22 mm	Résultat négatif
MC558	<i>E.coli</i>	20 mm	Résultat négatif
K1700	<i>E.coli</i>	20 mm	Résultat négatif
K763	<i>E.cloaceae</i>	21 mm	Résultat négatif



Figure 13: Production de l'enzyme Aac(6')Ib-cr pour la souche d'*E. coli* A1531.

Au cours des dix dernières années, l'augmentation de la multirésistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif, et notamment la dissémination des entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC), a engendré le retour de la colistine comme traitement de dernier recours. Très récemment des gènes de résistance plasmidique à la colistine *mcr-1* et *mcr-2* ont été décrits chez de nombreuses espèces d'entérobactéries isolées un peu partout dans le monde y compris l'Algérie, surtout chez l'animal et dans une moindre mesure chez l'homme (Dortet et al., 2016).

Le but de notre travail était d'étudier la sensibilité à la colistine et à d'autres familles d'antibiotiques chez des souches d'entérobactéries isolées à partir de prélèvements urinaires d'origine hospitalière et communautaire, au niveau de l'EPH d'Amizour et de quatre laboratoires d'analyses médicales privés de la wilaya de Bejaïa.

Dans notre étude, l'espèce *E. coli* était le germe le plus fréquemment isolé dans les IU (71,53%) suivi de *Klebsiella sp* et de *Proteus sp* avec des taux de 14,6 % et de 10, 22% respectivement. Ces résultats sont proches de ceux rapportés par Bontroki et al concernant les IU communautaires à Guelma (Bentroki et al., 2012). La fréquence d'*E. coli* est en rapport avec la physiopathologie de l'IU qui est en générale ascendante. Il existe une forte colonisation de périnée par les entérobactéries d'origine digestive, et en particulier *E. coli*. A cela, s'ajoutent des facteurs spécifiques d'uropathogénicité. Ainsi, *E. coli* possède des adhésines capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales. Les souches de *Klebsiella sp* et de *Proteus sp* secrètent une uréase qui alcalinise l'urine, dont le PH naturellement acide empêche la prolifération des germes (Larabi et al., 2003; Sekhsokh et al., 2008).

Le sex-ratio femme/homme était de 3,42. Il y'avait donc trois fois plus de patients de sexe féminin que de patient de sexe masculin. Des résultats comparables ont été rapportés par Larabi et al (Larabi et al., 2003). En effet, les infections urinaires sont beaucoup plus fréquentes chez la femme que chez l'homme, cela s'explique par le fait qu'elle présente un urètre court, et 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).

Les taux d'infection étaient le plus fréquent (48,17%) chez la catégorie d'âge compris entre 15 à 65 ans. Chez les femmes, la fréquence augmente avec l'âge, chez l'homme la

fréquence augmente après 50 ans, en relation notamment avec la pathologie prostatique (Caron et al., 2008).

Dans notre étude, 6 souches d'entérobactéries soit un taux de 4,3% étaient résistantes à la colistine incluant 5 souches d'*E. coli* et 1 souche de *Klebsiella* sp. Ces souches ont été isolées à partir de prélèvements urinaires de patients de sexe féminin d'origine communautaire (4 au niveau de l'hôpital d'Amizour et 2 au niveau du laboratoire Lalaoui). Les mécanismes de résistance à la colistine peuvent correspondre soit à des mutations chromosomiques des gènes impliqués dans la modification de la charge du LPS (choi et al., 2015) soit à un mécanisme d'origine plasmidique par production d'une phosphoéthanolamine transférase codée par le gène *mcr-1*. Dans notre cas, la résistance à la colistine était de bas niveau avec des CMI entre 4 µg/ml et 8 µg/ml. Ce qui, d'après la littérature, peut correspondre à une résistance d'origine plasmidique (Liu et al., 2016).

Bien que ce nouveau mécanisme de résistance n'ait été décrit que très récemment (novembre 2015), la majorité des études rétrospectives visant à étudier la prévalence des souches productrices de Mcr-1 font état de la présence de son émergence dès 2010. Les plus anciennes souches d'*E. coli* productrices de Mcr-1 ont été isolées en Chine à partir de poulets d'élevage dès les années 1980 (Shen et al., 2016). En revanche, la dissémination de ces souches s'est dramatiquement amplifiée à partir des années 2008-2010 (Kusumoto et al., 2016 ; Shen et al., 2016), en lien avec l'utilisation intensive des polymyxines dans l'élevage animal (Catry et al., 2015).

Rapidement après la publication de la séquence nucléotidique du gène *mcr-1* de nombreux groupes ont recherché sa présence. Ainsi un nombre important de rapports a fait état de la présence de ce gène dans un grand nombre de pays. Au 1^{er} août 2016, 1472 souches d'entérobactéries productrices de Mcr-1 ont été décrites sur quatre continents : 49,0% des souches (n=722) en Europe, 43,4 % des souches (n=639) en Asie, 5,2 % des souches (n=76) en Afrique, 2% des souches (n=30) en Amérique du sud, et 0,3% des souches (n=5) en Amérique du nord (Dortet et al., 2016).

De plus, les données de la littérature montrent clairement une dissémination du gène *mcr-1* dans le monde animal et plus particulièrement chez les animaux d'élevage (bétail, volaille, et élevage porcin) (Liu et al., 2016; Doumith et al., 2016; Falgenhauer et al., 2016; Hu et al., 2016). De même, en Algérie, une étude antérieure a montré la présence du gène *mcr-1* chez une souche de *E. coli* isolée à partir de poulet en 2015 (Olaitan et al., 2016).

De plus, quelques souches ont été isolées de façon sporadique à partir de légumes (Zurfuh et al., 2016), d'animaux de compagnie, de nourriture pour animaux (Hu et al., 2016), de prélèvements environnementaux (eau de rivière) (Yu et al., 2016; Zurfuh et al., 2016), et d'oiseaux migrateurs (Ruzauskas et al., 2016).

Le gène *mcr-1* a également été décrit chez des souches d'origine humaine. En effet, deux études ont rapporté la présence de ce gène chez des souches cliniques d'*E. coli* isolées en 2011 à partir de prélèvements de urinaire et de sperme à Sidi Belabess et à Oran respectivement (Berrazeg et al., 2016; Yanat et al., 2016). Le gène *mcr-1* était porté sur un plasmide conjugatif et chez une souche appartenant au groupe clonal ST405 (Yanat et al., 2016).

Dans ce travail, nous nous sommes également intéressés à l'étude de la sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Ainsi, les résultats de l'antibiogramme ont révélés une résistance beaucoup plus élevée pour l'acide nalidixique (32,7% soit 45/137). Une étude précédente menée entre 2008 et 2011 sur les IU en Algérie a rapporté un taux similaire de 30% (Bentroki et al., 2012). L'acide nalidixique fait partie de la famille des quinolones qui sont parmi les antibiotiques les plus utilisés après les β -lactamines dans le traitement des IU. Chez les entérobactéries, la résistance à cette famille d'antibiotiques est due le plus souvent à des mutations au niveau des gènes codant pour l'ADN gyrase (*gyrA*) et la topoisomérase IV (*parC*) (Jacoby, 2005).

Le taux de résistance à ciprofloxacine était de 10,87%. Le test permettant la recherche de l'enzyme Aac(6')Ib-cr était positif pour une seule souche d'*E. coli* (A1531). Ce mécanisme de résistance aux quinolones d'origine plasmidique confère une résistance de bas niveau aux fluoroquinolones hydrophiles mais aussi aux aminosides. Dans une étude récente menée en Algérie, la prévalence des souches productrices de l'enzyme Aac(6')Ib-cr était de 10% parmi des souches d'entérobactéries d'origine communautaire isolées entre 2010 et 2014 isolées à Béjaïa (Yanat et al., 2016).

Les taux de résistance aux aminosides étaient de 17% pour la gentamycine et de 14% pour la tobramycine et l'amykacine. Une étude récente réalisée sur les IU communautaires en Mauritanie a rapporté des taux de résistance de 16,5% pour la gentamycine (Hailaji et al., 2016). L'inactivation enzymatique des aminosides est le mécanisme de résistance le plus répandu en particulier la N-acétyltransférases (AAC) (Galimand et al., 2003).

Le taux de résistante à la céfoxitine était de 15,21%. et de Des résultats assez proches ont été rapporté chez des souches de *E. coli* isolées en Mauritanie avec un taux de 19,8%. La résistance d'*E. coli* à la céfoxitine est un indicateur de production de céphalosporinase plasmidique (AmpC). CMY-2 est le type d'enzyme AmpC le plus répandu et présentant la plus large distribution géographique. Il a été précédemment signalé en Algérie par Iabadene et al (2009). Par ailleurs, la résistance à la céfoxitine chez *E. coli* peut également être expliquée par la surexpression de sa céphalosporinase chromosomique après acquisition d'un promoteur fort (Mammeri et al., 2008).

Dans notre étude, la prévalence des entérobactéries productrices de BLSE était de 3 %.

Le taux de résistance à l'imipénème était de 1,5% (2/137) dont une souche d'*E. coli* et une souche de *P. vulgaris*. Cette dernière a présenté des résultats relativement positifs aux tests de Hodge et de CIM mais négatif pour le test à l'EDTA, ce qui voudrait dire que, probablement due à une modification des PLP.

Dans cette présente étude, la souche d'*E. coli* A1531, isolées d'une patiente âgée de 7 ans au niveau de l'hôpital d'Amizour, présentait une multirésistance touchant plusieurs famille d'antibiotiques. En effet, cette souche était à la fois résistante à la colistine, productrice de BLSE et aussi productrice de l'acétyl transférase modifiée *Aac(6')Ib'-cr*. Toutefois, cette souche restait sensible à l'imipénème.

La multirésistance de cette souche peut être due au transfert horizontal de gènes de résistance aux antibiotiques portés sur un même plasmide. Des études précédentes ont permis d'identifier le gène *mcr-1* en association avec les gènes codant pour les carbapénémases de type KPC et OXA-48 chez une souche d'*E. coli* (Beyrouthy et al., 2017), avec le gène codant pour une BLSE chez une souche de *K. pneumoniae* (Caspar et al., 2017) ainsi qu'avec le gène *aac(6')Ib'-cr* chez des souches de *Salmonella* (Li et al., 2016).

Au cours de notre étude réalisée au niveau du laboratoire microbiologique d'EPH Amizour. Nous avons procédé à la collecte de souches d'entérobactéries à l'hôpital ainsi qu'au niveau des laboratoires d'analyses médicales de Béjaia ayant pour objectif d'évaluer la prévalence de la résistance à la colistine, mais aussi à d'autres familles d'antibiotiques.

Au total, 137 souches d'entérobactéries ont été collectées dont 100 % d'origine urinaire. 77.37% de ces souches étaient isolées de patients de sexe féminin et *E. coli* était l'espèce la plus fréquemment isolée (71.53%).

Parmi les 137 patients infectés, 10 présentaient une infection urinaire d'origine hospitalière et 127 présentaient une infection urinaire communautaire. Les patients les plus touchés par ces infections étaient issus de la catégorie d'âge de plus de 16 ans jusqu'à 65ans (48.17%).

La résistance à la colistine a été détectée chez 6 souches d'entérobactéries incluant 5 souches d'*E. coli* et 1 souche de *Klebsiella* sp. Cette résistance était de bas niveau pour toutes les souches avec des CMI pour la colistine de 4 µg/ml et de 8 µg/ml.

Le taux de résistance le plus élevée était pour l'acide nalidixique (32,7% soit 45/137) suivi de la pour la gentamycine (17%). Par ailleurs, les taux les plus faibles étaient enregistrés pour les carbapénèmes.

Parmi les souches résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération, 4 étaient BLSE positives incluant 2 souches d'*E. coli* (A1531) et (K1327) et de 2 souches de *Klebsiella* sp (L4414) et (A442). Cependant, la prévalence des BLSE pourrait être sous-estimée en raison de l'absence d'utilisation d'inhibiteur de céphalosporinase (cloxacilline) qui pourrait améliorer la mise en évidence de la production de BLSE.

Dans cette étude, nous avons noté la présence d'une souche d'*E. coli* (A1531) multirésistante qui était à la fois résistante à la colistine, productrice de BLSE et aussi productrice de l'acétyl transférase modifiée Aac(6')Ib'-cr. La dissémination des souches cliniques multirésistantes liée au caractère plasmidique de la résistance est considéré comme un problème majeur de santé car elle restreint considérablement le choix thérapeutique dans le traitement des IU.

Actuellement, on assiste à l'émergence d'un nouveau mécanisme de résistance à la colistine, les gènes *mcr-1/2*, qui de par leurs caractères transférables et leurs associations à

plusieurs autres marqueurs de résistance aux antibiotiques telles que les BLSE, les Aac(6')Ib-cr et OXA-48 rendent la situation plus que préoccupante.

D'autant plus que la résistance plasmidique à la colistine a été identifiée chez différentes espèces d'entérobactéries aussi bien chez l'Homme que chez l'animal ou même que dans l'environnement. Mettant en évidence les animaux destinés à la consommation comme étant réservoir potentiel des gènes *mcr*.

Ainsi, afin de limiter la propagation des souches portant le gène *mcr*. Il faudrait encourager le dépistage de la résistance à la colistine chez les souches d'entérobactéries d'origine humaine et animale afin de connaître l'ampleur réelle d'un problème qui pourrait s'aggraver en raison de l'échange constant de gènes de résistance entre microbiote.

Les hôpitaux doivent être conscients de cette nouvelle menace pour la sécurité des patients et souhaiteront envisager quelques options de préparation pratiques et proportionnées. Pour cela, il faudrait avant tout s'assurer de l'identification des espèces bactérienne (pour ne pas confondre avec la résistance naturelle) et de déterminer les CMI de la colistine.

A cet effet, les recherches actuelles essayent de mettre en place des tests réalisables en routine permettant la détection rapide et peu coûteuse de la résistance plasmidique à la colistine.

Enfin, les mesures visant à renforcer les mesures d'hygiène hospitalière ainsi qu'une utilisation plus prudente des antibiotiques sont essentielles pour prévenir et contrôler la résistance aux antimicrobiens, de manière en générale, et prenant en compte la résistance à colistine. Une sensibilisation des professionnels de la santé peuvent empêcher la propagation des souches d'*Enterobacteriaceae mcr-1*-positives dans les hôpitaux et autres établissements de santé.

En perspectives les résultats obtenus au cours de notre étude restent préliminaires et devront être complétés par d'autres études à savoir :

- Confirmation de l'identification des souches pour éviter des résistances naturelles (MALDITOF)
- Réaliser Polymyxin NP test
- Réaliser une conjugaison pour les souches résistantes à la colistine pour confirmer que le mécanisme de résistance était plasmidique.

- Caractérisation par la biologie moléculaire des mécanismes biochimiques et génétiques de la résistance aux antibiotiques par une PCR, séquençage et MLS.

B

Baba Ahmed-Kazi Z, Arlet G. (2014).Actualité de résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *PatholBiol (Paris)*.2014.01.005

Baron S, Bardet L, Dubourg G, Fichaux M et Rolain, JM. (2017). mcr-1 plasmid-mediated colistin resistance gene detection in an *Enterobacter cloacae* clinical isolate in France. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*

Bentrouki AA, Gouri A, Yakhlef A, Touaref A, Gueroudj A, Bensouilah T(2012). Résistance aux antibiotiques de souches isolées d'infection urinaires communautaires entre 2007 et 2011 à Guelma (Algérie). *Ann Biol Clin*, 70(6) :666-8

Bergen P J, Li J, Rayner C R, Nation R L. (2006). Colistin methanesulfonate is an inactive prodrug of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(6), 1953-1958.

Bergen PJ, Landersdorfer CB, Zhang J, Zhao M, Lee H J, Nation R L, Li J. (2012). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of 'old' polymyxins: what is new?. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 74(3), 213-223.

Berrazeg M, Hadjadj L, Ayad A, Drissi M, et Rolain JM. (2016). First Detected Human Case in Algeria of mcr-1 Plasmid-Mediated Colistin Resistance in a 2011 *Escherichia coli* Isolate. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(11), 6996.

Beyrouthy R, Robin F, Lessene A, Lacomat I, Dortet L, Naas T, et Bonnet R. (2017). MCR-1 and OXA-48 in vivo acquisition in KPC-producing *Escherichia coli* after colistin treatment. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, AAC-02540.

C

Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompарт CM, Albertí S, et Bengoechea JA. (2004). Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infection and immunity*, 72(12), 7107-7114.

Cannatelli A, D'Andrea M M, Giani T, Di Pilato V, Arena F, Ambretti, S. Rossolini, G M. (2013). In vivo emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-type carbapénémases mediated by insertional inactivation of the PhoQ/PhoP mgrB regulator. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(11), 5521-5526.

Carle S. (2009). La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important!. Pharmactuel, 42.

Caron F, Galperine T, Dumarcet N, Azria R, Bingen E, Botto H, Cavallo JD, Chartier-Kastler E, Dacher JN, et Diatta T.(2008). Recommandation de bonne pratique. Diagnostique et antibiothérapies des infections bactériennes communautaire chez l'adulte. Médecine et maladies infectieuses .28,203-252.

Caspar Y, Maillet M, Pavese P, Francony G, Brion JP, Mallaret MR., et Maurin M. (2017). mcr-1 ColistinResistance in ESBL-Producing *Klebsiellapneumoniae*, France. EmergingInfectiousDiseases, 23(5), 874.

Catry B, Cavaleri M, Baptiste K, Grave K, Grein K, Holm A, et al. (2015).Use of colistin-containing products within the European Union and European Economic Area (EU/EEA): development of resistance in animals and possible impact on human and animal health. Int J Antimicrob Agents;46:297—306.

Cavaco LM, Hasman H, Xia S et Aarestrup FM. (2009). *qnrD*, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin. Antimicrob Agents Chemother.53:603–608.

Choi MJ, Ko KS. (2015).Loss of hypermucoviscosity and increased fitness cost in colistin-resistant *Klebsiellapneumoniae* sequence type 23 strains. Antimicrob Agents Chemother;59:6763—73.

Clausell A, Garcia-Subirats M, Pujol M, Busquets M A, Rabanal F, Cajal Y. (2007). Gram-negative outer and inner membrane models: insertion of cyclic cationic lipopeptides. The journal of physical chemistry B, 111(3), 551-563.

CLSI 2015.

ᐃ

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

Dortet L, Bonnin R, Jousset A, Gauthier L et Naas T. (2016). Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries: une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance!. Journal des Anti-infectieux, 18(4), 139-159.

Euro surveillance, 20(49).

F

Falagas M E, Kasiakou S K, Saravolatz L D. (2005). Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical infectious diseases*, 40(9), 1333-1341.

Falagas ME et Karageorgopoulos DE. (2009). Extended-spectrum β -lactamase-producing organisms. *Journal of Hospital Infection*. 73:345-354.

Falagas ME, Rafailidis PI et Matthaiou DK. (2010). Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug resistance updates*, 13(4), 132-138.

Falgenhauer L, Waezsada SE, Yao Y, Imirzalioglu C, Kasbohrer A, et al. (2016). Colistin resistance gene *mcr-1* in extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Germany. *The Lancet infectious diseases*, 16(3), 282-283.

Falgenhauer L, Waezsada SE, Yao Y, Imirzalioglu C, Kasbohrer A, Roesler U, et al.

(2016). Colistin resistance gene *mcr-1* in extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Germany. *Lancet Infect Dis*;16:282—3.

Fonseca EL et Vicente AC. (2013). Epidemiology of *qnrVC* alleles and emergence out of the *Vibrionaceae* family. *J Med Microbiol*.62:1628–1630.

G

Galimand, M., Courvalin, P., and Lambert, T. (2003). Plasmid-mediated high level resistance to aminoglycosides in *Enterobacteriaceae* due to 16S rRNA methylation. *Antimicrob. Agents Chemother*. 47, 2565–2571.

Gao R, Li Y, Lin J, Tan C, Feng Y. (2016). Unexpected complexity of multidrug resistance in the *mcr-1*. *Science China Life Sciences*, 59(7), 732-734.

Godbole G, Ashton P, Larkin L, Dallman T, Day M, Doumith M, Godbole G, Ashton P, Larkin L, Dallman T, Day M, et al. (2016). Detection of the plasmid-mediated *mcr-1* gene conferring colistin resistance in human and food isolates of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in England and Wales. *J Antimicrob Chemother*;71:2300—5.

Grall N, Andreumont A et Armand-Lefèvre L. (2011). Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse?. *Journal des Anti-infectieux*, 13(2), 87-102.

Guardabassi L, Jensen LB et Kruse H. (2008). Guide to Antimicrobial use in animals. BlackwellPublishing, 223 p.

Gunn JS. (2008). The *Salmonella* PmrAB Regulon: lipopolysaccharide modifications, antimicrobial peptide resistance and more. Trends Microbiol 16:284–290.

Gupta S, Govil D, Kakar PN, Prakash O, Arora D, Das S et Malhotra A. (2009). Colistin and polymyxin B: are-emergence. Indian Journal of Critical Care Medicine, 13(2), 49.

H

Hailaji NSM, Salem MO, et Ghaber SM. (2016). La sensibilité aux antibiotiques des bactéries uropathogènes dans la ville de Nouakchott–Mauritanie. Progrès en Urologie, 26(6), 346-352.

Hasman H, Hammerum AM, Hansen F, Hendriksen RS, Olesen B, et al. (2015). Detection of mcr-1 encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015.

Hata M, Suzuki M, Matsumoto M, Takahashi M, Sato K, Ibe S et Sakae K. (2005). Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b. Antimicrob Agents Chemother. 49:801–803

Hu Y, Liu F, Lin IY, Gao GF, Zhu B. (2016). Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene The Lancet infectious diseases, 16(2), 146-147.

I

Iabadene H, Messai Y, Ammari H, Alouache S, Verdet C, Bakour R, Arle G. (2009). Prevalence of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases among Enterobacteriaceae in Algiers hospitals. Int. J. Antimicrob. Agents. 34: 340-342.

J

Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM, Walker VJ, Oh H, Robicsek A, Hooper DC. (2006). *qnrB*, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. Antimicrob Agents Chemother. 50:1178–1182.

Jacoby GA. (2005). Mechanisms of resistance to quinolones. *Clinical Infectious Diseases*, 41(Supplement 2), S120-S126.

Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G et Philippon A. (1988). Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Review of Infectious Diseases*, 10(4), 867-878.

Jayol A, Poirel L, Brink A, Villegas MV, Yilmaz M et Nordmann, P. (2014). Resistance to colistin associated with a single amino acid change in protein PmrB among *Klebsiella pneumoniae* isolates of worldwide origin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(8), 4762-4766.

Jeong SH, Bae IK, Park KO, An YJ, Sohn SG, Jang SJ, et Lee SH. (2006). Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea. *JOURNAL OF MICROBIOLOGY-SEOUL-*, 44(4), 423.

Johnning A, Kristiansson E, Fick J, Weijdegård B et Larsson DJ. (2015). Resistance mutations in *gyrA* and *parC* are common in *Escherichia* communities of both fluoroquinolone-polluted and uncontaminated aquatic environments. *Frontiers in microbiology*, 6.

K

Kamga HG, Nzengang R, Toukam M, Sando Z, et Shiro SK. (2014). Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaoundé (Cameroun). *African Journal of Pathology and Microbiology*, 3, 1-4.

Katz E et A L. Demain. (1977). "The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions." *Bacteriol Rev* 41(2): 449-474.

Kusumoto M, Ogura Y, Gotoh Y, Iwata T, Hayashi T, Akiba M. (2016). Colistin-resistant *mcr-1* positive pathogenic *Escherichia coli* in swine, Japan, 2007—2014. *Emerg Infect Dis*;22:1315—7.

L

Larabi K, Masmoudi A, et Fendi C.(2003). Etude bactériologique et phénotype de résistance des germes responsables d'infection urinaire dans un CHU de Tunis : à propos de 1930. Médecines et maladies infectieuses.33,348-352.

Le Minor C, RichardC, (1993). Méthode de laboratoire pour l'identification des entérobactéries .Institut Pasteur, France.

Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH et Chong Y. (2010).Improved performance of the modifiedHodge test withMacConkey agar for screening carbapenemase-producing Gram-negativebacilli. Journal of microbiologicalmethods, 83(2), 149-152.

Li A, Yang Y, Miao M, Chavda KD, Mediavilla JR, Xie X et Du H. (2016).Complete sequences of mcr-1-harboring plasmids from extended-spectrum-β-lactamase-and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Antimicrobial agents and chemotherapy, 60(7), 4351-4354.

Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, et al. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis 10:1016-1473.

M

Mammeri H, PoirelL,Bemer P, Drugeon H et Nordmann P.(2004). Resistance to Cefepime and Cefpirome De to a 4-Amino-Acid Delection in the Cheomosome- Encoded AmpC β-lactamase of a Serratiamarcescens Clinical Isolate. Antimicrobial Agents and Chemoterapy. 48, 716-720.

Martínez-Martínez L, Pascual A et Jacoby G A. (1998). Quinolone resistancefrom a transferableplasmid. The Lancet, 351(9105), 797-799.

N

Nordmann P. (2010). Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. médecine/sciences, 26(11), 950-959.



Olaitan AO, Chabou S, Okdah L, Morand S, Rolain JM. (2016). Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis*;16:147.

Olaitan AO, Morand S, Rolain J M. (2014). Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in microbiology*, 5(643), 18.



Padilla E, Llobet E, Doménech-Sánchez A, Martínez-Martínez L, Bengoechea JA, et Albertí S. (2010). *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(1), 177-183.

Périchon B, Courvalin, P, Galimand M. (2007). Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(7), 2464-2469.

Pierce VM., Simner PJ, Lonsway DR., Roe-Carpenter DE, Johnson JK, Brasso WB, et Thomson RB. (2017). The Modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM) for Phenotypic Detection of Carbapenemase Production among Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, JCM-00193.

Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB et Poirel L. (2005). Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother.* 56(1):52-9.

Poirel L, Kieffer N, Liassine N, Thanh D, Nordmann P. (2016). Plasmid-mediated carbapenem and colistin resistance in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Lancet Infect Dis*, 16(281), 00006-2.

Prescott JF et Dowling PM. (2013). Antimicrobial therapy in veterinary medicine. John Wiley & Sons. 683P.

R

Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, Macielag M, Abbanat D, Park CH, Bush K, Hooper DC (2006). Fluoroquinolone modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med.* 12:83-8.

Ruppé É, Woerther PL et Barbier F. (2015). Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Annals of intensive care*, 5(1), 21.

Ruppé E. (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi: l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques*, 12(1), 3-16.

Ruzauskas M, Vaskeviciute L. (2016). Detection of the mcr-1 gene in *Escherichia coli* prevalent in the migratory birds species *Larus argentatus*. *J Antimicrob Chemother*;71:2333-4.

S

Saighi D, Peyromauure M et Debré D. (2004). *Urologie*. Ed Masson. Belgique. 191 p.

Schmiemann G, Kniehl E, Gebhardt K, Matejczyk, MM, et Hummers-Pradier E. (2010). The diagnosis of urinary tract infection: a systematic review. *Deutsches Ärzteblatt International*, 107(21), 361.

Sekhsokh Y, Chadli M, El Hamsaoui SA. (2008). Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecine des maladies infectieuses*. 38,324-327.

Shen Z, Wang Y, Shen Y, Shen J, Wu C. (2016). Early emergence of mcr-1 in *Escherichia coli* from food-producing animals. *Lancet Infect Dis*;16:293.

Storm DR, Rosenthal KS et Swanson PE. (1977). "Polymyxin and related peptide antibiotics." *Annu Rev Biochem* 46: 723-763.

Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, et Robicsek A. (2009). Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin. Microbiol. Rev.* 22:664-689

V

Vaara M. (2010). Polymyxins and their novel derivatives. *Current opinion in microbiology*, 13(5), 574-581.

W

Wachino JI, Yamane K, et Arakawa Y. (2011). Practical disk-based method for detection of *Escherichia coli* clinical isolates producing the fluoroquinolone-modifying enzyme AAC (6')-Ib-cr. *Journal of clinical microbiology*, 49(6), 2378-2379.

Wang M, Guo Q, Xu X, Wang X, Ye X, Wu S, Hooper DC et Wang M. (2009). New plasmid-mediated quinolone resistance gene, *qnrC*, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:1892–1897.

X

Xavier BB, Lammens C, Ruhai R, Kumar-Singh S, Butaye P, Goossens H, et Malhotra-Kumar S. (2016). Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Eurosurveillance*, 21(27).

Xia R, Guo X, Zhang Y et Xu H. (2010). *qnrVC*-like gene located in a novel complex class 1 integron harboring the *ISCR1* element in an *Aeromonas punctata* strain from an aquatic environment in Shandong Province, China. *Antimicrob Agents Chemother.* 54:3471–3474.

Y

Yahav D, Farbman L, Leibovici L et Paul M. (2012). Colistin: new lessons on an old antibiotic. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(1), 18-29.

Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura k, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Konda T, Arakawa Y. (2007). New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, *Qep*, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother.* 51:3354-60.

Yanat B, Machuca J, Yahia RD, Touati A, Pascual Á et Rodríguez-Martínez JM. (2016). First report of the plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in a clinical *Escherichia coli* isolate in Algeria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48(6), 760-761.

Yanat B, Machuca J, Díaz-De-Alba P, Mezhoud H, Touati A, Pascual Á, Rodríguez-Martínez JM. (2016). Characterization of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants in High-Level Quinolone-Resistant Enterobacteriaceae Isolates from the Community: First Report of *qnrD* Gene in Algeria. *Microb Drug Resist.* 2017 Jan;23(1):90-97

Ye H, Li Y, Li Z, Gao R, Zhang H, et al. (2016).Diversified mcr-1-harboring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. *MBio*, 7(2)00177-16.

Z

Zhang XF, Doi Y, Huang X, Li HY, Zhong LL, et al. (2016). Possible transmission of mcr-1-harboring *Escherichia coli* between companion animals and human. *Emerging infectious diseases*, 22(9), 1679.

Zurhuh, Poirel, L, Nordmann, Nuesch-Inderbinen M, Hächler H et Stephan R. (2016). Occurrence of the plasmid-borne mcr-1 colistin resistance gene in extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in river. water and imported vegetable samples in Switzerland. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(4), 2594-2595.

Composition des milieux de cultures (g/l d'eau distillée) (Le Minor et Richard, 1993).

Gélose Hektoen	g/l
Protéose peptone	12
Extrait de levure	03
Chlorure de sodium	05
Thiosulfate de sodium	05
Sels biliaires	09
Citrate de fer ammoniacal	1.5
Salicine	02
Lactose	12
Saccharose	12
Fuchsine acide	0.04
Bleu de bromothymol	0.065
Agar	14
PH	7.5 ± 0.2

Gélose Mac Conkey	g/l
Peptone de caséine	17
Peptone de viande	03
Sels biliaires	1.5
Cristal violet	0.001
Lactose	10
Rouge neutre	0.03
Chlorure de sodium	05
Agar	13.5
ZnSO ₄	0.07
PH	7.1 ± 0.2

Gélose Muller Hinton	g/l
Hydrolysate acide de caséine	17.5
Infusion de viande	02
Amidon	1.5
Agar	17
PH	7.4 ± 0.2

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

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

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

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

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

Gélose BCP	g/l
Peptone	05
Extrait de viande	03
Lactose	10
Pourpre de bromocrésol	10
Agar	15
PH	7

Gélose EMB	g/l
Peptone de viande	10
Lactose	10
Eosine jaunâtre	0,4
Bleu de méthylène	0,067
Phosphate de potassique	02
Agar	13,5
PH	7,4

Gélose TSI	g/l
Extraits de viande de bœuf	03
Extraits de levure	03
Peptone	20
Chlorure de sodium	05
Citrate ferrique	0,3
Lactose	10
Saccharose	10
Glucose	01
Thiosulfate de sodium	0,3
Rouge de phénol	10,05
Agar	12
PH	7,4

Gélose Mannitol-Mobilité	g/l
Peptone trypsique	20
KNO ₃	02
Rouge de phénol à 1%	1ml
Agar	04

Réactif de Kovacs	g/l
Alcool amylique au isoamylique	150ml
Pradiméthylaminobenzaldehyde	10
Acide chlorhydrique concentré	50ml

Rouge de méthyle	g/l
Rouge de méthyle	0,5
Alcool éthylique à 60%	100ml

Tableau I : Différents tests biochimiques d'identification. (Danis et al., 2007).

Test	Principe du test	Réactif à ajouté	Interprétation des résultats	
			Positif	Négatif
Recherche de nitrate réductase sur bouillon nitraté	Ensemencement à partir d'une culture sur milieu solide. Incubation à 37°C /24h	NRI et NRII	Couleur Rouge	Couleur Jaune
Utilisation du Glucose, Lactose, Saccharose et production du Gaz et d' H2S sur milieu TSI	Ensemencement de la pente par des stries et pique centrale. Incubation à 37°C /24h	/	Virage de la pente au jaune (Fermentation de lactose)	Couleur de la pente Rouge
			Virage du culot au jaune (Fermentation du Glucose)	Couleur du culot Rouge
			Virage de centre au jaune (Fermentation du saccharose)	Couleur de centre Rouge
			Apparition de bulles (Production de Gaz)	Pas de bulles
			Noircissement du milieu (Production d' H2S)	Pas de couleur noir
Utilisation du citrate sur Gélose de citrate de simmons	Ensemencement par stries Incubation à 37°C /pendant 1 à 7jours	/	Croissance sur la pente et virage du milieu au bleu (Utilisation du citrate)	Pas de croissance couleur vert
Etude du type fermentaire sur bouillon Clark et Lubs	Ensemencement et incubation à 37°C/48h	VPI et VPII	Couleur Rouge cerise (Formation d'acétoïne)	Incolore
		RM	Couleur Rose (Formation des acides mixtes)	Incolore
Production d'indole sur milieu E.P.E.I	Ensemencement à partir d'une culture sur milieu solide. Incubation à 44°C/24h	Kovacs	Anneau Rouge en surface (Production d'indole)	Incolore
Utilisation du mannitol/Mobilité sur Gélose Mannitol - Mobilité	Ensemencement par pique centrale Incubation à 37°C /24h	/	Couleur Jaune du milieu (Fermentation du mannitol)	Couleur Rouge
			Diffusion homogène (Mobilité)	Pas de diffusion

Tableau I : les antibiotiques testées et les diamètres d'inhibition édités par la CLSI 2015 .

Antibiotiques	Abréviation	Charge de disque (µg)	marque	Diamètres critiques (mm)		Familles
				R	S	
Amoxiciline-acide clavulanique	AMC	30	Cypress Diagnostics	≤13	≥18	β-lactamines
céfoxitine	FOX	30	Cypress Diagnostics	≤14	≥18	
céftazidime	CAZ	30	Oxoid	≤17	≥21	
céfotaxime	CTX	30	Cypress Diagnostics	≤22	≥26	
céfépime	FEP	30	Cypress Diagnostics	≤18	≥25	
aztréonam	ATM	30	Cypress Diagnostics	≤17	≥21	
méropénème	MEM	10	Cypress Diagnostics	≤19	≥23	
imipénème	IPM	10	Cypress Diagnostics	≤19	≥23	
ciprofloxacine	CIP	05	Cypress Diagnostics	≤15	≥21	
Acide nalidixique	AN	30	Cypress Diagnostics	≤13	≥19	
Gentamicine	GEN	10	Cypress Diagnostics	≤12	≥15	Aminosides
Tobramicine	TOB	10	Cypress Diagnostics	≤12	≥15	
Amikacine	AK	30	Oxoid	≤14	≥17	
Colistine	CL	10	Cypress Diagnostics	<15	>15	polimixines

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

Code	Espèce	Date du prélèvement	Type du prélèvement	Sexe	Age	Laboratoire
249	E.coli	30.01.17	ECBU	Féminin	05 ans	Dr Kebiche
1648	K. pneumoniae	30.01.17	ECBU	Féminin	Adulte	Dr Kebiche
1662	E.coli	30.01.17	ECBU	Féminin	66 ans	Dr Kebiche
1700	E.coli	30.01.17	ECBU	Féminin	04 ans	Dr Kebiche
1774	E.coli	30.01.17	ECBU	Féminin	73 ans	Dr Kebiche
850	K.oxytoca	06.02.17	ECBU	Féminin	68 ans	EPH d'Amizour
908	E.coli	07.02.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Djama
212	E.coli	07.02.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Djama
135	E.coli	07.02.17	ECBU	Masculin	Ad	Dr Djama
423	E.coli	07.02.17	ECBU	Féminin	80 ans	Dr Kebiche
492	E.coli	07.02.17	ECBU	Féminin	15 ans	Dr Kebiche
H809	P.mirabilis	08.02.17	ECBU	Féminin	24 ans	Dr Moualek
547	E.coli	08.02.17	ECBU	Masculin	33 mois	Dr Kebiche
6742	E.coli	11.02.17	ECBU	Féminin	76 ans	Dr Moualek
7024	K.pneumoniae	12.02.17	ECBU	Féminin	71 ans	Dr Moualek
4067	E.coli	14.02.17	ECBU	Masculin	67 ans	Dr Lalaoui
4511	E.coli	14.02.17	ECBU	Féminin	08ans	Dr Lalaoui
6276	E.coli	14.02.17	ECBU	Féminin	07 ans	Dr Lalaoui

1047	P.mirabilis	14.02.17	ECBU	Masculin	Ad	EPH d'Amizour
909	Kluyovera sp	14.02.17	ECBU	Féminin	56 ans	Dr Kebiche
1018	E.coli	14.02.17	ECBU	Féminin	50 ans	Dr Kebiche
1006	K.pneumoniae	14.02.17	ECBU	Féminin	64 ans	Dr Kebiche
1060	E.coli	14.02.17	ECBU	Masculin	05 mois	Dr Kebiche
1308	E.coli	14.02.17	ECBU	Féminin	06 ans	Dr Kebiche
1438	E.coli	14.02.17	ECBU	Féminin	41 ans	Dr Kebiche
7488	K.pneumoniae	14.02.17	ECBU	Féminin	35 ans	Dr Moualek
5884	K.oxytoca	17.02.17	ECBU	Féminin	26 ans	Dr Lalaoui
6131	E.coli	17.02.17	ECBU	Féminin	02 ans	Dr Lalaoui
7876	E.coli	19.02.17	ECBU	Féminin	38 ans	Dr Moualek
4414	K.pneumoniae	19.02.17	ECBU	Féminin	25 ans	Dr Lalaoui
8599	E.coli	19.02.17	ECBU	Masculin	Ad	Dr Lalaoui
329	Proteus	20.02.17	ECBU	Masculin	Ad	Dr Djama
M903	E.coli	20.02.17	ECBU	Masculin	31 ans	Dr Moualek
7461	E.coli	21.02.17	ECBU	Féminin	03 ans	Dr Lalaoui
7569	E.coli	21.02.17	ECBU	Féminin	85 ans	Dr Lalaoui
1635	K.pneumoniae	22.02.17	ECBU	Féminin	31 ans	Dr Kebiche
1648	P.vulgaris	22.02.17	ECBU	Féminin	05 ans	Dr Kebiche
1740	E.coli	22.02.17	ECBU	Féminin	29 ans	Dr Kebiche
1879	E.coli	22.02.17	ECBU	Féminin	73 ans	Dr Kebiche

1944	E.coli	22.02.17	ECBU	Féminin	13 ans	Dr Kebiche
1947	E.coli	22.02.17	ECBU	Féminin	27 ans	Dr Kebiche
6947	P.mirabilis	22.02.17	ECBU	Féminin	34 ans	Dr Lalaoui
361	E.coli	22.02.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Djama
9881	E.coli	23.02.17	ECBU	Masculin	21 ans	Dr Moualek
1343	E.coli	26.02.17	ECBU	Féminin	Ad	EPH d'Amizour
1344	K.oxytoca	26.02.17	ECBU	Féminin	Ad	EPH d'Amizour
726	E.coli	26.02.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Djama
886	E.coli	26.02.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Djama
1975	E.coli	28.02.17	ECBU	Féminin	28 ans	Dr Kebiche
2043	E.coli	28.02.17	ECBU	Féminin	27 ans	Dr Kebiche
10795	P.mirabilis	28.02.17	ECBU	Féminin	03 ans	Dr Moualek
3031	E.coli	01.03.17	ECBU	Féminin	2 mois	Dr Lalaoui
11035	E.coli	01.03.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Moualek
31	K.pneumoniae	01.03.17	ECBU	Féminin	04 ans	Dr Kebiche
113	E.coli	01.03.17	ECBU	Féminin	42 ans	Dr Kebiche
11356	E.coli	02.03.17	ECBU	Féminin	08 ans	Dr Moualek
11412	E.coli	02.03.17	ECBU	Masculin	81 ans	Dr Moualek
045	E.coli	02.03.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Djama
320	E.coli	02.03.17	ECBU	Masculin	70 ans	Dr Djama
318	E.coli	04.03.17	ECBU	Féminin	45 ans	Dr Kebiche

289	E.coli	04.03.17	ECBU	Féminin	30 ans	Dr Djama
3991	E.coli	05.03.17	ECBU	Masculin	70 ans	Dr Lalaoui
1531	E.coli	06.03.17	ECBU	Féminin	07 ans	EPH d' Amizour
12228	P.mirabilis	06.03.17	ECBU	Féminin	18 mois	Dr Moualek
H1450	K.pneumoniae	06.03.17	ECBU	Féminin	26 ans	Dr Moualek
12346	E.coli	07.03.17	ECBU	Féminin	67 ans	Dr Moualek
321	E.coli	08.03.17	ECBU	Féminin	27 ans	Dr Djama
357	E.coli	08.03.17	ECBU	Féminin	50 ans	Dr Djama
481	E.coli	11.03.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Djama
1632	E.coli	12.03.17	ECBU	Féminin	Ad	EPH d' Amizour
1637	M.morganii	12.03.17	ECBU	Féminin	67 ans	EPH d' Amizour
660	E.coli	12.03.17	ECBU	Féminin	60 ans	Dr Kebiche
763	E.cloacae	12.03.17	ECBU	Masculin	76 ans	Dr Kebiche
869	E.coli	12.03.17	ECBU	Féminin	03 ans	Dr Kebiche
1682	E.coli	13.03.17	ECBU	Féminin	Ad	EPH d' Amizour
324	P.mirabiliS	13.03.17	ECBU	Masculin	Nouveau née	EPH d' Amizour
894	E.coli	13.03.17	ECBU	Féminin	32 ans	Dr Kebiche
919	E.coli	13.03.17	ECBU	Féminin	04 ans	Dr Kebiche
1039	E.coli	13.03.17	ECBU	Féminin	07 ans	Dr Kebiche
D597	Enterobacter	13.03.17	ECBU	Féminin	47 ans	Dr Moualek
4497	Klebsiella	14.03.17	ECBU	Féminin	30 ans	Dr Lalaoui

1738	E.coli	14.03.17	ECBU	Féminin	Ad	EPH d'Amizour
DJ92	E.coli	14.03.17	ECBU	Féminin	63 ans	Dr Moualek
13929	E.coli	14.03.17	ECBU	Féminin	28 ans	Dr Moualek
4596	Klebsiella	16.03.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Lalaoui
1138	E.coli	16.03.17	ECBU	Féminin	24 ans	Dr Kebiche
1165	E.coli	16.03.17	ECBU	Féminin	02 ans	Dr Kebiche
1327	E.coli	16.03.17	ECBU	Féminin	77 ans	Dr Kebiche
1385	E.coli	16.03.17	ECBU	Féminin	50 ans	Dr Kebiche
4728	E.coli	20.03.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Lalaoui
1835	E.coli	20.03.17	ECBU	Féminin	Ad	EPH d'Amizour
1884	K.oxytoca	22.03.17	ECBU	Féminin	Ad	EPH d'Amizour
1522	P.mirabilis	23.03.17	ECBU	Masculin	02 ans	Dr Kebiche
1569	E.coli	23.03.17	ECBU	Féminin	34 ans	Dr Kebiche
1625	E.coli	23.03.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Kebiche
1640	E.coli	23.03.17	ECBU	Féminin	05 ans	Dr Kebiche
8410	E.coli	26.03.17	ECBU	Féminin	23 ans	Dr Lalaoui
393	E.coli	26.03.17	ECBU	Masculin	20 jours	EPH d'Amizour
1945	E.coli	26.03.17	ECBU	Féminin	32 ans	EPH d'Amizour
2013	E.coli	28.03.17	ECBU	Féminin	50 ans	EPH d'Amizour
1891	E.coli	28.03.17	ECBU	Féminin	21 ans	Dr Kebiche
434	E.coli	01.04.17	ECBU	Féminin	Ad	EPH d'Amizour

4353	E.coli	02.04.17	ECBU	Féminin	50 ans	Dr Lalaoui
442	K.pneumoniae	02.04.17	ECBU	Féminin	Ad	EPH d' Amizour
102	P.vulgaris	02.04.17	ECBU	Féminin	90 ans	Dr Kebiche
190	E.coli	03.04.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Kebiche
209	E.coli	03.04.17	ECBU	Homme	75 ans	Dr Kebiche
2123	E.coli	03.04.17	ECBU	Masculin	37 ans	EPH d' Amizour
2127	E.coli	04.04.17	ECBU	Féminin	47 ans	EPH d' Amizour
462	E.coli	04.04.17	ECBU	Masculin	75 ans	EPH d' Amizour
281	P.vulgaris	04.04.17	ECBU	Masculin	02 ans	Dr Kebiche
3500	E.coli	09.04.17	ECBU	Féminin	05 ans	Dr Moualek
9477	E.coli	09.04.17	ECBU	Masculin	65 ans	Dr Lalaoui
571	Proteus	12.04.17	ECBU	Féminin	32 ans	Dr Djama
512	E.coli	13.04.17	ECBU	Féminin	10 mois	EPH d' Amizour
863	E.coli	13.04.17	ECBU	Féminin	31 ans	Dr Kebiche
902	E.coli	13.04.17	ECBU	Féminin	36 ans	Dr Kebiche
9508	Proteus	14.04.17	ECBU	Féminin	2ans	Dr Lalaoui
9518	E.coli	14.04.17	ECBU	Féminin	75 ans	Dr Lalaoui
517	K.pneumoniae	15.04.17	ECBU	Féminin	28 ans	EPH d' Amizour
2376	E.coli	16.04.17	ECBU	Féminin	31 ans	EPH d' Amizour
1200	K.pneumoniae	16.04.17	ECBU	Féminin	42 ans	Dr Kebiche
1288	E.coli	16.04.17	ECBU	Féminin	05 ans	Dr Kebiche

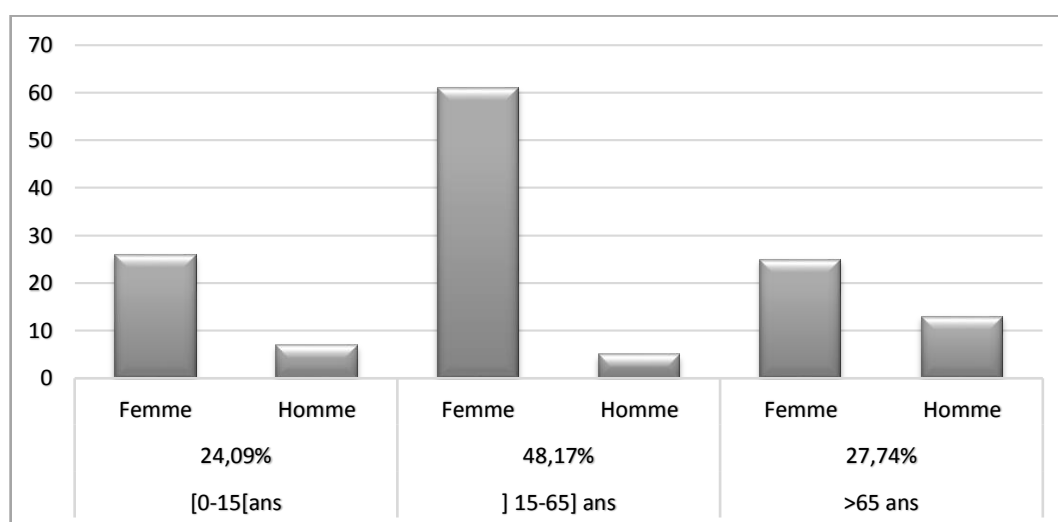
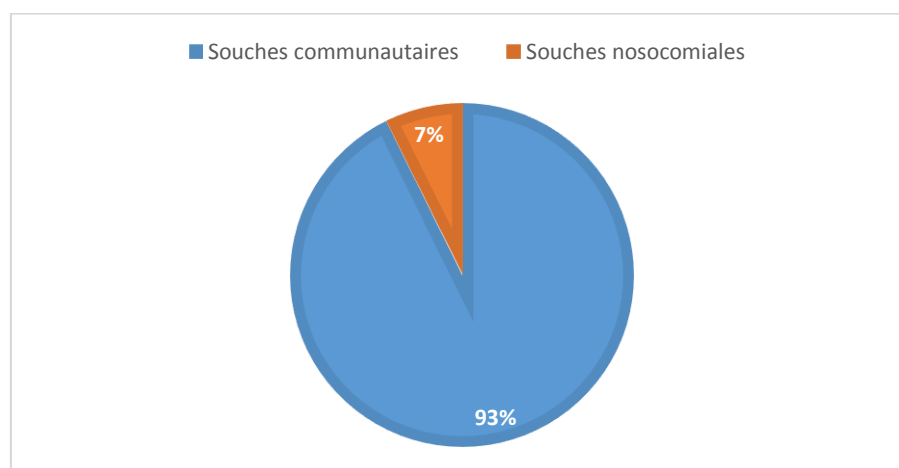
C558	E.coli	17.04.17	ECBU	Masculin	Adulte	Dr Moualek
6215	E.coli	17.04 .17	ECBU	Féminin	Adulte	Dr Moualek
9828	E.coli	18.04.17	ECBU	Féminin	26 ans	Dr Lalaoui
2441	K.pneumoniae	18.04.17	ECBU	Féminin	31 ans	EPH d'Amizour
536	E.coli	19.04.17	ECBU	Masculin	Adulte	EPH d'Amizour
541	E.coli	19.04.17	ECBU	Féminin	90 ans	EPH d'Amizour
9908	E.coli	21.04.17	ECBU	Masculin	88 ans	Dr Lalaoui
4382	Klebsiella	23.04.17	ECBU	Féminin	03 ans	Dr Lalaoui
797	Klebsiella	24.04.17	ECBU	Féminin	Ad	Dr Djama
2396	E.coli	24.04.17	ECBU	Féminin	34 ans	EPH d'Amizour
2575	E.coli	24.04.17	ECBU	Féminin	Adulte	EPH d'Amizour
571	E.coli	25.04.17	ECBU	Féminin	Adulte	EPH d'Amizour
2594	E.coli	25.04.17	ECBU	Féminin	Adulte	EPH d'Amizour
11058	Enterobacter	09.05.17	ECBU	Masculin	2 mois	Dr Moualek

Tableau I : Résultats de l'identification par la galerie chimique

Souche	Nitrate réductase	Indole	Uréase	Lactose	Glucose	H ₂ S	Gaz	Citrate	RM	VP	Mannitol	Mobilité	TDA
E. coli	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-
K.pneumoniae	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-
K.oxytoca	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-
P. mirabilis	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+
P.vulgaris	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+
E.cloacae	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-

Tableau I : Répartition des souches selon le sexe des patients

Sexe	Effectifs	Pourcentage %
Féminin	106	77,37
Masculin	31	22,63
Total	137	100

**Figure 1 :** Répartition des souches d'entérobactéries selon l'âge et le sexe des patients.**Figure 8 :** Répartition des souches selon leur origine (hospitalière ou nosocomiales)

Résumé

L'objectif de notre travail est l'étude de la sensibilité à la colistine et à d'autres familles d'antibiotiques de souches d'entérobactéries isolées à partir de prélèvements urinaires d'origine hospitalière et communautaire, collectées au niveau de l'EPH d'Amizour et de 4 laboratoires d'analyses médicales privés de la wilaya de Bejaïa. Les souches collectées ont été testées par différents familles d'antibiotique et l'étude de la sensibilité de ces souches à la colistine était réalisée par des CMI en milieu liquide. Au total, 137 souches d'entérobactéries ont été collectées, dont 06 était résistante à la colistine, 04 productrices de BLSE, 01 seule souche productrice de l'acétyltransférase plasmidique. En conclusion, le taux de résistance à la colistine est relativement élevé. Ainsi une politique de surveillance est nécessaire.

Mots clés : Entérobactéries, colistine, infection urinaire, antibiorésistance

summary

The objective of our work is to study the susceptibility to colistin and other families of antibiotics of strains of enterobacteria isolated from urinary samples of hospital and community origin collected at the EPH level Amizour and 4 private medical laboratories in the wilaya of Bejaia. The collected strains were tested by different families of antibiotics and the sensitivity of these strains to colistin was measured by liquid MICs. A total of 137 strains of enterobacteria were collected, of which 06 was resistant to Colistin, 04 producing ESBL, 01 single strain producing plasmid acetyltransferase. In conclusion, the rate of resistance to colistin is relatively high. Thus a monitoring policy is necessary.

Key words: Enterobacteriaceae, colistin, urinary tract infection, antibiotic resistance

ملخص

الهدف من عملنا هو دراسة الحساسية للكوليسيتين وغيرها من عائلات المضادات الحيوية على السلالات المعوية المعزولة من عينات البول من مستشفى أميزور. جميع السلالات تم اختبارها على مختلف المضادات الحيوية و دراسة الحساسية على الكوليسيتين تم ب CMI في الوسط السائل. في المجلد 137 بكتيريا معوية تم جمعها، منها 06 كانت مقاومة كوليستين، 04 منتجة للBLSE ، 01 تنتج فقط سلالة البلازميد أسيتيل. وفي الختام، فإن معدل مقاومة كوليستين مرتفع نسبيا. هكذا سياسة الرصد لازمة.

الكلمات الرئيسية: البكتيريا المعوية، كوليستين، التهاب المسالك البولية، والمقاومة للمضادات الحيوية