



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant
Filière : Sciences biologiques, Spécialité : Microbiologie et Hygiène
Hospitalière

Par : Haouachi Racha.

Thème

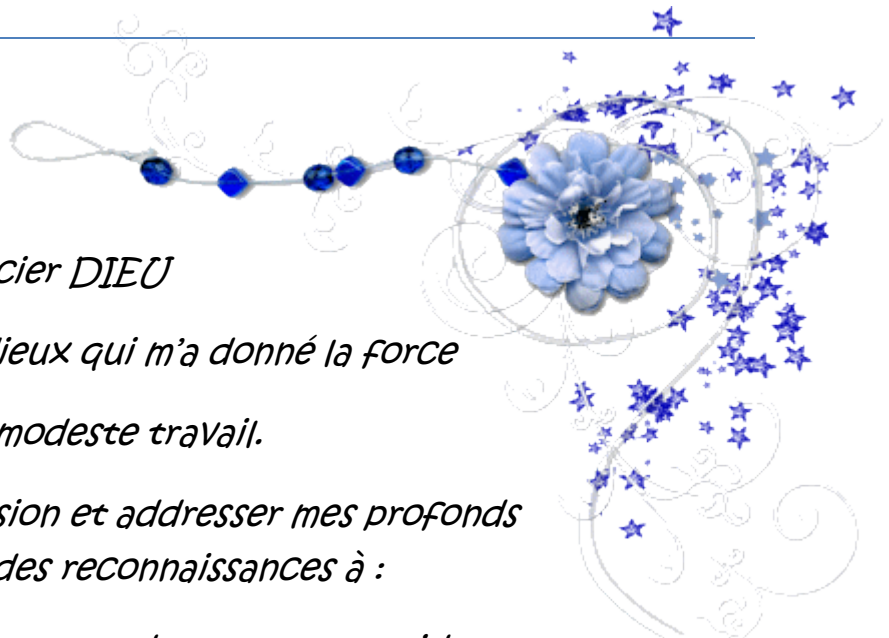
**Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries
à gram négatif productrices de Beta-Lactamase à
spectre étendu ou élargi au niveau du
CHU-BENBADIS Constantine**

Jury d'évaluation :

Président de jury :	Dr.MAAMERI. Z
Rapporteur :	Dr. Mosbah. A
Examineur :	Dr.BELLIL. I
Maitre de stage :	Dr. BENTCHOUALA. CH

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017-2018

REMERCIEMENT



*Je tiens tout d'abord à remercier DIEU
le tout puissant et miséricordieux qui m'a donné la force
et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Je tiens à saisir cette occasion et adresser mes profonds
remerciements et mes profondes reconnaissances à :*

- *Dr. MOSBAH Asma , mon encadreur pour son aide , ses remarques et ses conseils.*
- *Dr. BENCHOUALA "Chouchou" , non seulement pour l'aide très précieuse qu'elle m'a apporté, mais aussi pour son enthousiasme communicatif, sa patience et sa totale disponibilité.*
- *Dr. Dr. BELLIL. Ines, de nous avoir accordé du temps afin d'examiner notre travail.*
- *Dr. MAAMERI Zineb , pour avoir accepté de présider ce jury et pour sa grande disponibilité et pour son total dévouement.*

Mes remerciements s'étendent également à tous mes professeurs, mes enseignants et mes doctorants pour leurs encadrements et leurs efforts durant mon cursus afin de fournir la meilleure formation possible.

Je remercie aussi l'ensemble du personnel de l'hôpital Benbadis CHU-Constantine, pour leur collaboration sans failles et pour la disponibilité dans toute la période de mon stage durant toutes ces années.

Je n'oublie pas mes collègues qui ont m'accompagné durant mes années d'études avec tous les bons et les mauvais moments qu'on a partagés ensembles, notamment mon groupe de la même spécialité qui était vraiment un exemple de respect, amitié, sincérité et convivialité.

Toute ma gratitude s'adresse à tous ces gens et à tous ceux qui d'une manière ou d'une autre ont participé de près ou de loin à la réalisation et la réussite de ce travail.



MERCI

DEDICACE



Je dédie mon modeste travail à :

Mes chers parents "AHMED & LEILA" qui par leurs prières et leurs encouragements, nous avons pu surmonter tous les obstacles, qui ont su m'inculquer la valeur et le goût du travail et qui m'ont permis de réaliser les études et la vie que je souhaitais. Je tiens à vous remercier pour votre soutien et votre confiance, que vous m'avez toujours accordés.

Spécialement à ma mère, pour tout l'amour, le soutien, les sacrifices et la patience dont vous avez faits preuves. Vous m'avez appris à aller au bout des choses, à ne jamais abandonner. Vous m'avez construit. Je vous dois tout.

Ainsi à ma sœur unique "LYNA" qui est toujours là pour me soutenir, me renforcer et m'aider, qu'avec elle je partage les moments de joie et de tristesse, de force et de faiblesse.

Mes tantes Soulaf, Asma, Wassila, Samia, Sandra et Assia ainsi que mes cousins et cousines.

Mes proches amis "Kheiro & Rayane", merci pour le soutien apporté depuis le jour de notre connaissance, merci pour votre gentillesse, patience, bon humeur, disponibilité et confiance.

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

Je n'oublie pas ma chère "Louazni Fatima" pour son aide.

© restaurant,
bination.



➤ Liste des figures

Figure 1 : Les cibles bactériennes des antibiotiques.	3
Figure 2 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative, adapté de Guardabassi et Courvalin (2006).	8
Figure 3 : Inactivation enzymatique de l'antibiotique.	9
Figure 4 : Modification de la cible de l'antibiotique.	9
Figure 5 : Mécanisme de Pompes à efflux.	10
Figure 6 : Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif.	12
Figure 7 : Structure de la paroi des bactéries à Gram positif.	12
Figure 8 : Mécanisme d'hydrolyse d'une β -lactamine par une β -lactamase.	16
Figure 9 : Les antibiotiques à noyau β -lactame ou β -lactamines.	18
Figure 10 : Schéma de la classification d'ambler.	19
Figure 11 : Test céfinase sur lame, tube et disque.	Annexe 3
Figure 12 : Test céfinase sur plaque.	Annexe 3
Figure 13 : Test de diffusion.	Annexe 3
Figure 14 : Les automates.	Annexe 3
Figure 15 : Antibiogrammes d'entérobactéries résistantes à l'association amoxicilline-clavulanate.	Annexe 3
Figure 16 : Antibiogramme d'E.coli produisant les b-lactamases à spectre élargi (céfotaximases) TEM-3 (A) et SHV-2 (B) et (ceftazidimases) TEM-24 (C) et SHV-12 (D).	Annexe 3

<p>Figure 17 : Antibiogramme de <i>E.coli</i> produisant des B-lactamases à spectre élargi (céfotaximases) de type CTX-M ‘’ordinaire’’ (CTX-M-9, A) et possédant une activité accrue vis-à-vis de la ceftazidine (CTX-M-16, B et CTX-M-19, C).</p>	Annexe 3
<p>Figure 18 : Béta-lactamase à spectre élargi de détection difficile par défaut de production : <i>P.mirabilis</i> produisant TEM-3. A, antibogramme comprenant des tests de synergie négatifs ; B, test de synergie positif ; C, test de synergie avec disque combinés.</p>	Annexe 3
<p>Figure 19 : Béta-lactamase à spectre élargi de type CMT chez <i>E.coli</i>.</p>	Annexe 3
<p>Figure 20 : <i>E.aerogenes</i> ‘’sauvage’’ (A), hyperproducteur d’AmpC (persistance du caractère inductible liée à une dérégulation partielle de l’expression du gène ampC) (B), de sensibilité diminuée ou (C) résistant (D) à l’imipénème et aux céphalosporines de 4^{ème} génération par l’association d’impermeabilité et d’hyperproduction d’AmpC.</p>	Annexe 3
<p>Figure 21 : <i>E.aerogenes</i> produisant NMC-A, une carbapénémase chromosomique de classe A.</p>	Annexe 3
<p>Figure 22 : Résistance à la céfotaxime , au céfuroxime et à la céfalotine par impermeabilité chez <i>E.coli</i>.</p>	Annexe 3
<p>Figure 23 : B-lactamines et phénotypes de résistance habituels aux B-lactamines : (E), <i>P.aeruginosa</i> RNL-1.phénotype B-lactamase à spectre étendu PER-1 ;(F), <i>P.aeruginosa</i> 15.phénotype B-lactamase à spectre étendu VEB-1 ;(G), <i>P.aeruginosa</i> CY-1 phénotype oxacilline à spectre étendu OXA-32 ;(H), <i>P.aeruginosa</i> COL-1 phénotype metallo-B-lactamase de type VIM-2.</p>	Annexe 3
<p>Figure 24 : Antibiogramme d’<i>E.coli</i> produisant les B-lactamases à spectre élargi (cefotaximases) TEM-3 (A) et SHV-2 (B) et (ceftazidimases) TEM-24 (C) et SHV-12 (D).</p>	Annexe 3
<p>Figure 25 : Pourcentage des <i>Escherichia coli</i> résistantes (R + I) aux antibiotiques.</p>	45

Figure 26 : Pourcentage des <i>Klebsiella pneumoniae</i> résistantes (R + I) aux antibiotiques.	46
Figure 27 : Pourcentage des <i>Enterobacter cloacae</i> résistants (R + I) aux antibiotiques.	47
Figure 28 : Pourcentage des <i>Serratia marcescens</i> résistantes (R + I) aux antibiotiques.	48
Figure 29 : Pourcentage des <i>Proteus mirabilis</i> résistants (R + I) aux antibiotiques.	49
Figure 30 : Pourcentage des <i>Salmonella</i> spp. Digestif (Isolées des coprocultures) résistantes (R + I) aux antibiotiques.	50
Figure 31 : Pourcentage des <i>Salmonella</i> spp. Extra digestives résistantes (R + I) aux antibiotiques.	51
Figure 32 : Pourcentage des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> résistants (R + I) aux antibiotiques.	52
Figure 33 : Pourcentage des <i>Acinetobacter</i> spp. Résistants (R + I) aux antibiotiques.	53
Figure 34 : Pourcentage des <i>Escherichia coli</i> isolées d'urines résistantes (R + I) aux antibiotiques.	54
Figure 35 : Pourcentage des <i>Escherichia coli</i> isolées d'hémocultures résistantes (R + I) aux antibiotiques.	55
Figure 36 : Pourcentage des <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées d'hémocultures résistantes (R + I) aux antibiotiques.	56
Figure 37 : Pourcentage des <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées des urines résistantes (R + I) aux antibiotiques.	57
Figure 38 : Pourcentage des <i>Proteus mirabilis</i> isolés d'hémocultures résistants	58

(R + I) aux antibiotiques.	
Figure 39 : Pourcentage des <i>Proteus mirabilis</i> isolés d'urines résistants (R + I) aux antibiotiques.	59
Figure 40 : Pourcentage des <i>Enterobacter cloacae</i> isolés d'hémocultures résistants (R + I) aux antibiotiques.	60
Figure 41 : Pourcentage des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolés d'hémocultures résistants (R +I) aux antibiotiques.	61
Figure 42 : Répartition des BLSE dans les services de médecine.	64
Figure 43 : Répartition des BLSE dans les services de réanimation.	64
Figure 44 : Répartition des BLSE dans les services d'urgence.	65
Figure 45 : Répartition des BLSE dans les services de chirurgie.	65
Figure 46 : Répartition des BLSE dans les services de pédiatrie.	66
Figure 47 : Répartition des BLSE dans les autres services.	66
Figure 48 : Répartition des BLSE dans tous les services de CHU Constantine.	67
Figure 49 : Répartition des EBLSE dans les services de médecine.	67
Figure 50 : Répartition des EBLSE dans les services de réanimation.	68
Figure 51 : Répartition des EBLSE dans les services de chirurgie.	68
Figure 52 : Répartition des EBLSE dans les services d'urgence.	69
Figure 53 : Répartition des EBLSE dans les services de pédiatrie.	69
Figure 54 : Répartition des EBLSE dans les autres services.	70
Figure 55 : Répartition des EBLSE dans le total des services.	70

Figure 56 : Répartition des BLSE dans l'hémoculture.	71
Figure 57 : Répartition des BLSE dans les urines.	71
Figure 58 : Répartition des BLSE dans les prélèvements de liquide céphalo rachidien.	72
Figure 59 : Répartition des BLSE dans les prélèvements des infections respiratoire.	73
Figure 60 : Répartition des BLSE dans les prélèvements de coproculture.	73

➤ Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales bétalactamases et leurs inhibiteurs.	17
Tableau 2 : Classification des β -lactamases d'après Ambler et Bush (1, 6, 14). L'efficacité enzymatique des β -lactamases et l'activité des molécules inhibitrices sont indiquées de façon semi-quantitative par les signes + et -.	21
Tableau 3 : Phénotypes de résistance «sauvage» des entérobactéries aux β -lactamines. La flèche indique les interprétations préconisées.	26
Tableau 4 : Phénotype de résistance « β -lactamases à spectre étendu» des entérobactéries.	31
Tableau 5 : Phénotype de résistance à l'imipénème des entérobactéries par production de carbapénémase.	33
Tableau 6 : Phénotypes de résistance aux β -lactamines et β -lactamases chez <i>P. aeruginosa</i> .	38
Tableau 7 : phénotype et mécanisme de résistance aux β -lactamines.	40
Tableau 8 : Nombre Total des souches d' <i>Escherichia coli</i> testées pour chaque molécule.	45
Tableau 9 : Nombre Total des souches des <i>Klebsiella pneumoniae</i> testées pour chaque molécule.	46
Tableau 10 : Nombre totale des souches d' <i>Enterobacter cloacae</i> testés pour chaque molécule.	47
Tableau 11 : Nombre totale des souches des <i>Serratia marcescens</i> testées pour chaque molécule.	48
Tableau 12 : Nombre totale des souches des <i>Proteus mirabilis</i> testés pour chaque molécule.	49
Tableau 13 : Nombre totale des souches des <i>Salmonella</i> spp. Isolées des	50

coprocultures testés pour chaque molécule.	
Tableau 14 : Nombre totale des souches des <i>Salmonella</i> spp. Extra digestives tétés pour chaque molécule.	51
Tableau 15 : Nombre totale des souches des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> testés pour chaque molécule.	52
Tableau 16 : Nombre totale des souches des <i>Acinetobacter</i> spp. Testés pour chaque molécule.	53
Tableau 17 : Nombre totale des souches d' <i>Escherichia coli</i> isolées d'urines testés pour chaque molécule.	54
Tableau 18 : Nombre totale des souches d' <i>Escherichia coli</i> isolées d'hémocultures testés pour chaque molécule.	55
Tableau 19 : Nombre totale des souches des <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées d'hémocultures testés pour chaque molécule.	56
Tableau 20 : Nombre totale des souches des <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées des urines testés pour chaque molécule.	57
Tableau 21 : Nombre totale des souches des <i>Proteus mirabilis</i> isolés d'hémocultures testés pour chaque molécule.	58
Tableau 22 : Nombre totale des souches des <i>Proteus mirabilis</i> isolés d'urines testés pour chaque molécule.	59
Tableau 23 : Nombre totale des souches des <i>Enterobacter cloacae</i> isolés d'hémocultures testés pour chaque molécule.	60
Tableau 24 : Nombre totale des souches des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolés d'hémocultures testés pour chaque molécule.	61
Tableau 25 : Répartition par marqueur de résistance des bactéries isolées dans les services de médecine, réanimation, chirurgie et urgence	62

Tableau 26 : Répartition par marqueur de résistance des bactéries isolées dans le service de pédiatrie et d'autres services.	62
---	----

Liste des abréviations

ABC : ATP-Binding Cassette

AMP/AMX : Ampicilline/Amoxicilline

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique

AMK : Amikacine

ATM : Aztréonam

BLSE : Beta-Lactamase à spectre étendu ou élargi

BGN : Bacille à Gram Négatif

BMR : Bactéries Multi Résistantes

BNF : Bactérie Non Fermentaires

CMI : concentration minimal inhibitrice

CHL : Chloramphénicol

CZO : Cefazoline

CTX/CRO : Cefotaxime/ceftriaxone

CAZ : Céftazidime,

COL : Colistine

CIP : Ciprofloxacine

ERT : Ertapenem

EDTA : acide Ethylène Diamine Tétra Acétique.

FOX : Cefoxitine

FOS : Fosfomycine

GEN : Gentamicine

I : intermédiaire

IMP : Imipeneme

LCR : liquide céphalo rachidien

LVX : Lévofoxacine

MLS : Macrolides, Lincosamides, Streptogramines

MBL: metallo Beta-Lactamase

MDR: Multiple Drug Resistance

NET : Netilmicine

NIT : Nitrofuranes

NAL : Acide nalidixique

OMP F : Protéines de membrane externe (outer membrane protein) F

OMS : Organisation Mondiale de Santé

Qnr : (*quinolone resistance*)

R : résistante

SXT : Cotrimoxazole

SDR: Specific Drug Resistance

TCC : Ticarcilline + Acide clavulanique.

PIP : Piperacilline

TIC: Ticarcilline

TOB : Tobramicine

SOMMAIRE

INTRODUCTION..... 1

GENERALITES.....3

CHAPITRE 1 : *L'antibiorésistance*

1. La définition de la résistance aux antibiotiques5

2. *La résistance naturelle* 6

3. La résistance acquise..... 6

4. Mécanisme de résistance.....7

4.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....8

4.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique.....9

4.3. Pompes à efflux..... 10

4.4. Perméabilité réduite.....11

4.5. Protection de la cible de l'antibiotique13

4.6. Piégeage de l'antibiotique..... 13

CHAPITRE 2 : La résistance enzymatique : bêta-lactamases à spectre élargie ou étendu (BLSE)

1. Historique des enzymes de résistance aux bêta-lactamines14

2. Définition des bêta-lactamases à spectre élargie ou étendu (BLSE)..... 15

3. La classification des BLSE18

4. Détection des BLSE22

5. Les bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargie ou étendu.....24

5.1. Les entérobactéries 24

5.1.1. Phénotypes de résistance des entérobactéries..... 25

A-Résistance naturelle ou phénotypes « sauvages » 25

B-Résistance acquise ou phénotypes résistants..... 29

5.2. Les bactéries non fermentaires..... 35

5.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*.....35

5.2.1.1. β – lactamases à spectre étendu.....	35
A. β - lactamase de la classe A.....	35
B. β - lactamase de la classe D.....	36
C. Carbapénémases de classe B (MBL).....	37
5.2.2. Acinetobacter.....	38
A-Phénotype sensible.....	39
B-Phénotypes de résistance acquise.....	39

CHAPITRE 3 : Matériel et méthodes

1. Lieu et type d'étude.....	41
2. Souches bactériennes.....	41
3. Identification bactérienne.....	41
4. Collecte des données.....	42
5. Traitement des données et analyse statistique.....	43

CHAPITRE 4 : Résultats et interprétations

1. Résultats de résistance aux antibiotiques par germe et par molécule d'antibiotique.....	44
1.1. Les entérobactéries.....	45
1.2. Les bactéries non fermentaires (BNF).....	52
2. Résultats de résistance aux antibiotiques par type de prélèvement	54
3. Profil Les résultats des Bactéries Multirésistantes par service	62
4. profil de BLSE par service.....	64
5. Profil des enterobactéries BLSE par service et par espèce.....	67
6. Profil des Bactérie Multirésistantes par type de prélèvement.....	71

CHAPITRE 5 : Discussion.....74

CONCLUSION.....77

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RÉSUMÉ

Introduction

Introduction

Depuis le début des années 60, nous assistons à une augmentation du nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques, surtout en milieu hospitalier, et à l'émergence de nouvelles résistances. Il s'agit d'un problème de santé publique extrêmement préoccupant, qui affecte de nombreux pays, bien que les souches résistantes soient souvent différentes d'un pays à l'autre. Cette résistance est une réalité présente et une menace pour l'avenir par son impact sur la morbidité et la mortalité, par les choix thérapeutiques de plus en plus difficiles et incertains, sources d'échecs et surtout thérapeutiques.

La sélection de souches résistantes aux antibiotiques a eu pour conséquence le développement de l'utilisation des antiseptiques et désinfectants dans tous les secteurs intéressés (production animale, secteur hospitalier). Des travaux réalisés dans le domaine de la santé publique ont montré que la résistance à ces antibactériens peut être de 2 types : la résistance chromosomique de type adaptatif obtenue par repiquages successifs dans des solutions aux concentrations subinhibitrices et la résistance de type plasmidique, bien connue avec le mercure, mais aussi démontrée dans de très rares cas avec l'hexachlorophène, la Chlorhexidine, les ammoniums quaternaires et le formaldéhyde.

La bactérie développe ainsi plusieurs stratégies pour résister à l'action des antibiotiques : la modification de la cible de l'antibiotique, l'imperméabilité de l'antibiotique et l'inactivation enzymatique de l'antibiotique. Cette dernière se fait par la sécrétion d'enzymes telles que les bêta-lactamases à spectre élargi secrétées par un grand nombre de bactéries et qui inhibent presque la totalité des bêta-lactamines qui constituent la plus vaste famille d'antibiotiques les plus utilisées. La détection de cette résistance permet de prévenir et de ralentir la diffusion de souches multirésistantes et d'optimiser le choix de l'antibiothérapie.

Les bêta-lactamines sont une vaste famille d'antibiotiques bactéricides, temps-dépendants, à spectre antibactérien plus ou moins large et recommandés dans de nombreuses indications. Ces molécule présentent une faible biodisponibilité par voie orale pour la plupart et sont donc très souvent administrés par voie intraveineuse. Les effets antibactériens sont synergiques avec les aminosides. Cette classe est susceptible par ailleurs d'entraîner des effets neuropsychiques concentration-dépendants.

Du fait de leur utilisation importante, les bêta-lactamines sont à utiliser raisonnablement afin de prévenir l'émergence de souches résistantes (bêta-lactamases à large spectre et

carbapénèmase). L'OMS a publié début 2017 une liste des agents prioritaires pour la recherche et le développement de nouvelles molécules cependant la priorité n°1 les *Acinetobacter baumannii*, les *Pseudomonas aeruginosa* et les entérobactéries productrices carbapénémases ainsi que les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu.

Ainsi cette étude a été menée au niveau de CHU de Constantine, dans le but d'évaluer le profil de résistance aux antibiotiques les plus communément utilisés (β -lactamines). Cette étude est rétrospective qui cerne plusieurs aspects de profil de résistance, sur une période d'un an (2017) portant sur l'ensemble des souches d'entérobactéries, *Acinetobacter baumannii* et les *Pseudomonas aeruginosa* isolées chez les malades externes et hospitalisés. Les aspects de profil déterminés dans cette étude sont :

- Profil de résistance aux antibiotiques par germe et par molécule
- Profil de résistance aux antibiotiques par type de prélèvement
- Profil de résistance des bactéries isolées par type de service hospitalier
- Profil de résistance des bactéries isolées par type de prélèvement
- Profil des entérobactéries BLSE par service hospitalier et par espèce bactérienne
- Profile des bactéries multirésistance (BLSE) par type de prélèvement

Généralités

➤ Généralités

Les antibiotiques sont l'une des plus importantes découvertes du XXe siècle. Les premiers furent le sulfamide développé en 1935 puis la pénicilline au lendemain de la seconde guerre mondiale. Si l'apparition de ces antibiotiques avait suscité un espoir de voir les maladies infectieuses à jamais jugulées (figure 1), les prescripteurs furent déçus très rapidement par l'apparition de bactéries résistantes. L'utilisation ultérieure des autres antibiotiques comme la streptomycine, le chloramphénicol, la tétracycline et l'érythromycine a connu une évolution comparable en termes de résistance. Des espèces bactériennes développent des mécanismes de défense *vis-à-vis* chaque antibiotique par plusieurs mécanismes. Il s'agit de la production des enzymes capables d'inactiver les antibiotiques, la modification dans la structure des cibles d'action des antibiotiques, la substitution de la cible, la modification de la perméabilité *vis-à-vis* les antibiotiques, la formation d'un biofilm et l'activation du processus de l'efflux actif. [1]

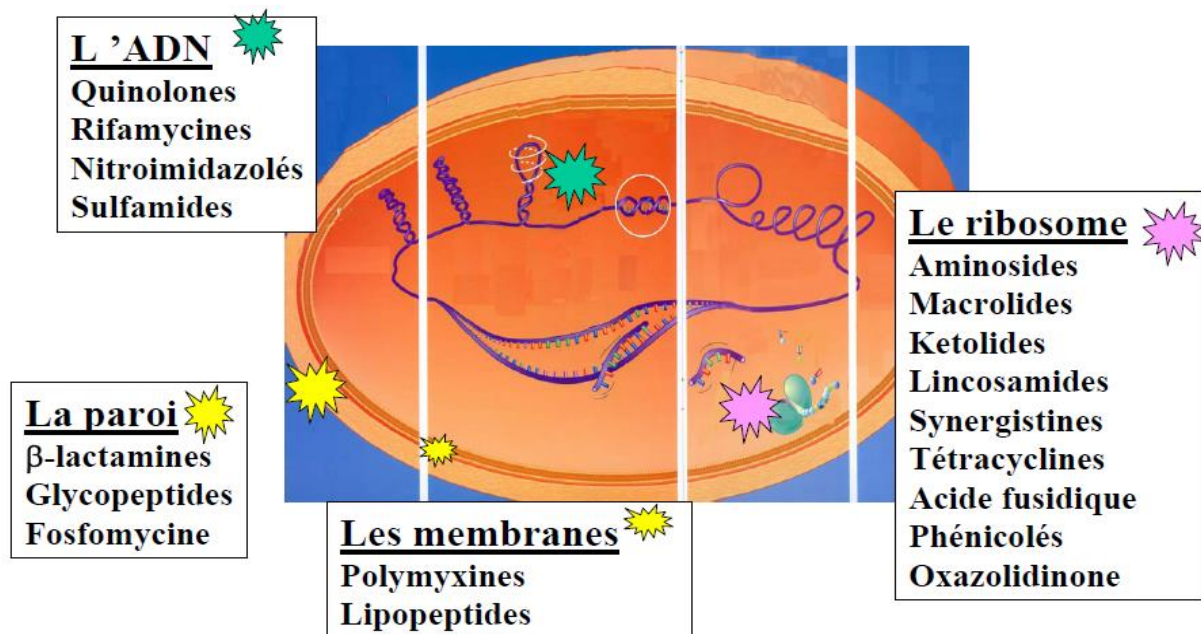


Figure 1 : les cibles bactériennes des antibiotique

Aujourd'hui, les progrès qu'on croyait avoir réalisés dans la lutte contre les bactéries sont anéantis par la résistance aux antibiotiques. Ce phénomène est devenu alarmant, pouvant conduire à des problèmes de prise en charge et d'impasse thérapeutique pour le traitement des patients. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a publié récemment un rapport portant sur la résistance aux antimicrobiens, dont la résistance aux antibiotiques. Selon l'OMS, ce phénomène est qualifié de « problème de santé publique et une grave menace qui touche tous

les pays ». Depuis la découverte du premier cas de résistance aux antibiotiques dans les années 1940, les laboratoires pharmaceutiques n'ont pas cessé de développer des solutions et des stratégies, en particulier pharmacologiques, afin de limiter sa survenue [1].

L'efficacité remarquable des antibiotiques a motivé leur utilisation massive et répétée en santé humaine et animale. Cela a créé une pression de sélection sur les populations bactériennes, entraînant l'apparition de souches résistantes. En effet, lorsqu'on emploie un antibiotique, seules survivent, et se reproduisent, les bactéries dotées de systèmes de défense contre cette molécule. La mauvaise utilisation des antibiotiques-traitements trop courts, trop longs ou à posologies inadaptées- est également pointée du doigt.

Ponctuelles au départ, ces résistances sont devenues massives et préoccupantes. Certaines souches sont multirésistantes, c'est-à-dire résistantes à plusieurs antibiotiques. D'autres sont même devenues toto-résistantes, c'est-à-dire résistantes à quasiment tous les antibiotiques disponibles [2].

Le nombre de décès directement liés à l'antibiorésistance pourrait atteindre 10 millions par an dans le monde à l'horizon 2050. L'OMS affirme aujourd'hui que la résistance à des antibiotiques constitue l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale. Si aucune découverte scientifique majeure ne vient changer la donne, un humain décéderait toutes les trois secondes comme conséquences de cette résistance [3].

Chapitre 1

L'antibiorésistance

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. Aujourd'hui, souvent d'origine synthétique et produits par l'homme, les antibiotiques sont au départ des substances naturelles générées par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se "défendre" contre les autres bactéries. Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger [6].

1. définition de la résistance aux antibiotiques

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et sur les critères cliniques (résistance *in vivo*). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. En outre, il est important de signaler, qu'en conditions *in vivo*, la capacité de résistance ou de sensibilité de la souche à la thérapie antimicrobienne mise en place sera dépendante de différents paramètres, tels que la localisation de la bactérie, le dosage, le mode d'administration de l'antibiotique, et l'état du système immunitaire de l'individu traité. Nombreuses sont les situations où le composé ne pourra pas pénétrer ou agir au niveau du site infectieux, créant de la sorte un état de résistance clinique [4].

La résistance bactérienne se manifeste par une absence d'inhibition de croissance des germes à des concentrations élevées d'antibiotique ou par une simple augmentation de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) par rapport à la sensibilité normale d'un ensemble de bactéries appartenant à une même espèce. De fait, qu'elle soit naturelle ou acquise, elle empêche la disparition du foyer infectieux [5].

Une bactérie est dite multirésistante aux antibiotiques lorsqu'elle n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique en raison de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques. La multirésistance est une étape vers l'impasse thérapeutique. [5]

2. La résistance naturelle

La résistance naturelle appelée aussi résistance intrinsèque, c'est une caractéristique présente chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien. Portée par les chromosomes, elle est stable, et transmise à la descendance.

Elle détermine le phénotype « sauvage » des bactéries et délimite le spectre d'action des antibiotiques. Par exemple, la présence d'une membrane externe chez les BGN entraîne la résistance à diverses classes de molécules par imperméabilité (glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines, etc.) [5].

Elle a pour support génétique le chromosome bactérien mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes).

Exemples de résistances naturelles :

1/ *Klebsiella* spp. Produit naturellement des bêta-lactamases. Cette enzyme est alors présente dans l'espace périplasmique de la bactérie et conduit à la destruction d'antibiotiques comme les pénicillines A, avant que ceux-ci ne puissent atteindre leur cible bactérienne ;

2/ les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides car le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies [6].

3. La résistance acquise

A l'inverse, la résistance acquise n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre ; dans certains cas, elle peut concerner la grande majorité de ces souches comme, par exemple, la production de pénicillinase chez le staphylocoque qui intéresse plus de 90 % des souches.

Elle est variable dans le temps et dans l'espace, et se propage de façon importante. Elle est portée par le chromosome, les plasmides, ou des éléments génétiques mobiles, permettant ainsi une transmission verticale à la descendance mais aussi une transmission horizontale, parfois

entre espèces différentes. Elle détermine le phénotype de résistance des bactéries et constitue un caractère épidémiologique [5].

La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible. La généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques d'où l'intérêt et la nécessité de réaliser des antibiogrammes [6].

Les résistances plasmidiques peuvent quant à elles concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques. Elles représentent le mécanisme de résistance le plus répandu, soit 80% des résistances acquises [2].

4. Mécanisme de résistance

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés [8]. La figure 2 présente une illustration de ces différents mécanismes de résistance au sein des bactéries à Gram négatif.

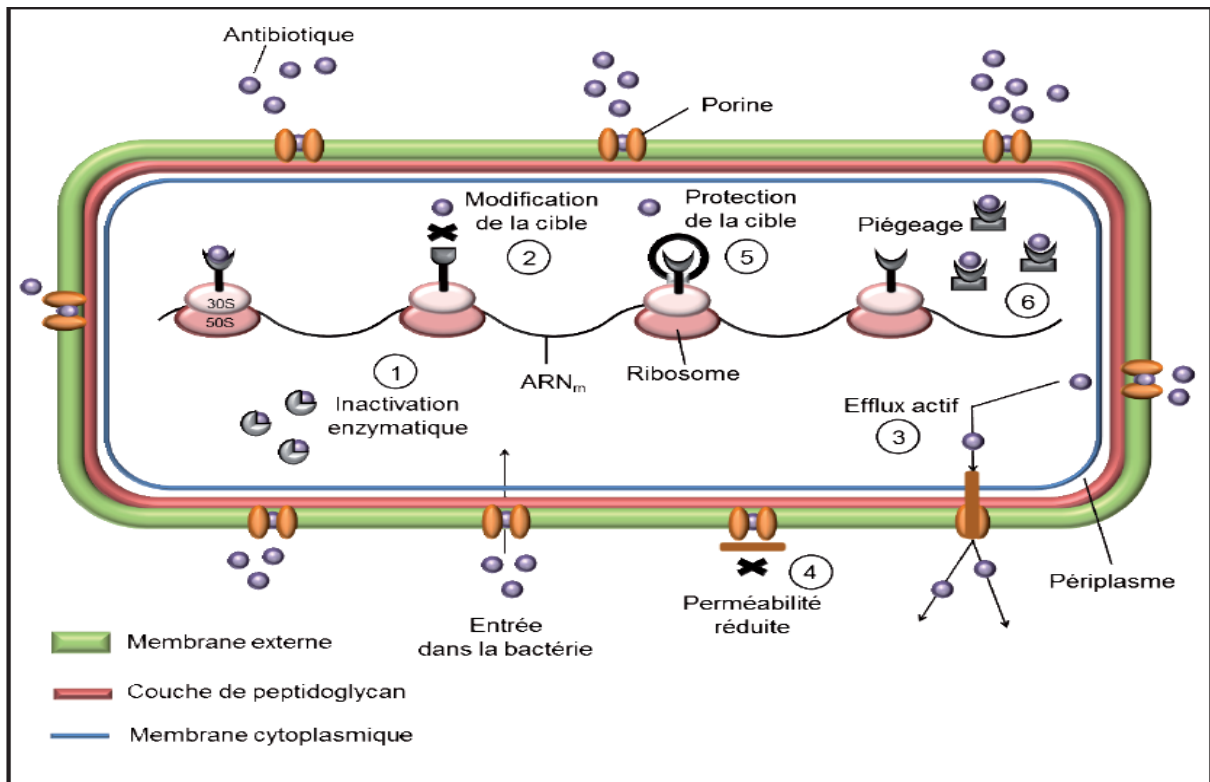


Figure 2 : différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative, adapté de Guardabassi et Courvalin (2006)

1 : inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2 : modification de la cible de l'antibiotique, 3 : efflux actif de l'antibiotique, 4 : perméabilité réduite, 5 : protection de la cible de l'antibiotique, 6 : piégeage de l'antibiotique.

4.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactamines (figure 3), des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules [8]. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité [7]. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles [9].

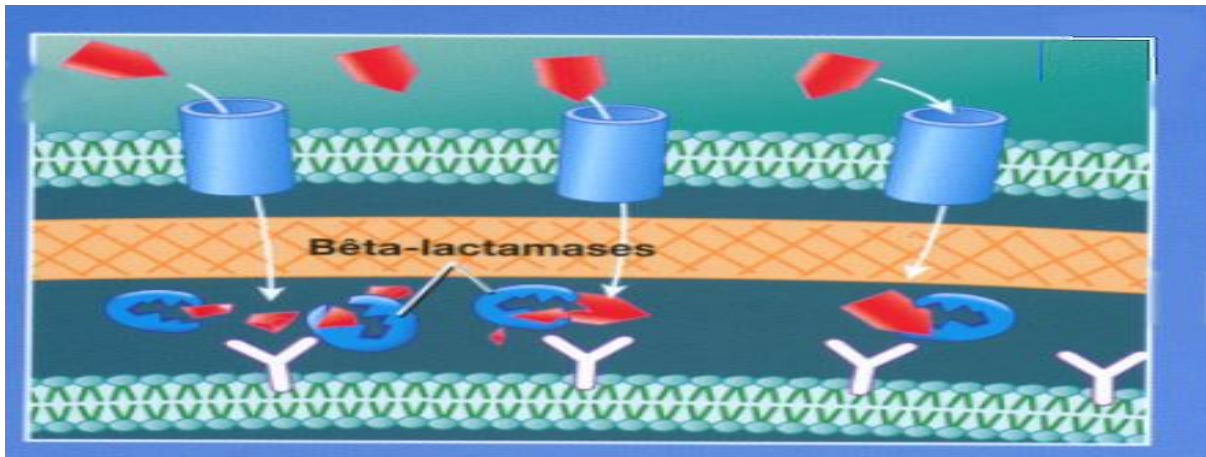


Figure 3 : Inactivation enzymatique de l'antibiotique

4.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries à Gram positif, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (figure 4) [8]. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible [7]. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les diaminopyrimidines (triméthoprime) et les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) ainsi qu'à toutes les bêtalactamines sont un exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (*Penicillin Binding Protein*) possédant une affinité moindre pour la méthicilline [9].

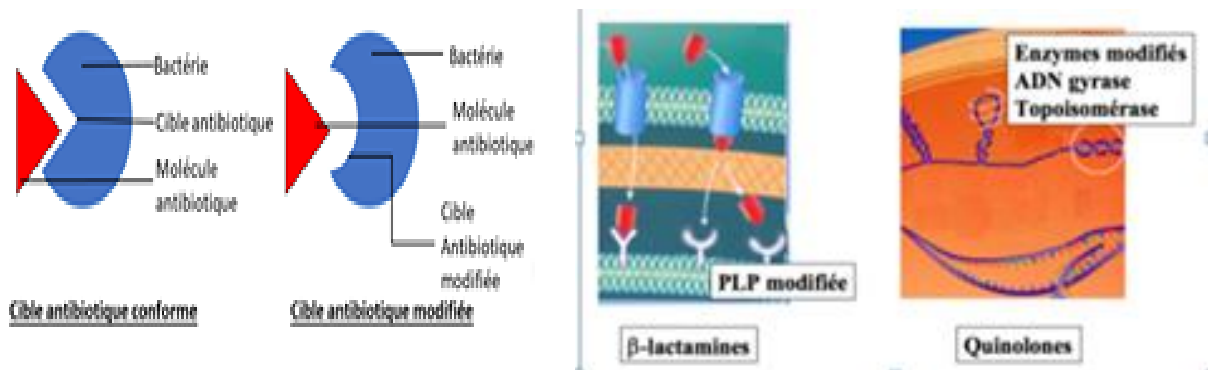


Figure 4 : Modification de la cible de l'antibiotique

4.3. Pompes à efflux :

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments [11]. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (figure 5). On classe ces pompes à efflux sur la base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée [12]. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (*Specific Drug Resistance*), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (*Multiple Drug Resistance*). Les pompes SDR, généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles, représentent un important mécanisme de résistance aux tétracyclines essentiellement chez les bactéries à Gram négatif, aux composés du groupe MLS et aux phénicolés. Les pompes MDR (notamment MexAB-OprM chez *P. aeruginosa*, AcrAB-TolC chez *Escherichia coli*, QacA chez *Staphylococcus aureus*, VceAB chez *Vibrio cholerae*, MdrL chez *Listeria monocytogenes* et MreA chez *Streptococcus agalactiae*) [10]. Généralement responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques, sont classées en deux groupes sur base de la source d'énergie utilisée : les transporteurs ABC (*ATP-Binding Cassette*) utilisant l'hydrolyse de l'ATP et plutôt spécifiques de certains composés comme le groupe MLS, et les transporteurs secondaires exploitant le gradient électrochimique transmembranaire de protons et d'ions sodium pour expulser la molécule à l'extérieur de la cellule et responsables de résistances multiples aux antibiotiques [8].



Figure 5 : Pompes à efflux

4.4. Perméabilité réduite

Contrairement aux bactéries à Gram positif, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycanes que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries à Gram négatif jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable. Les figures 6 et 7 présentent la structure des bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Ainsi, au sein des bactéries à Gram négatif, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines, alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique. La membrane externe de certaines bactéries telles que *P. aeruginosa* est moins perméable que celle d'autres espèces, ce qui lui confère un niveau moins élevé de sensibilité aux antimicrobiens [8]. En outre, des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. La réduction de l'expression de la porine OmpF chez *E. coli* entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêta-lactamines, aux tétracyclines et au chloramphénicol. La diminution de la perméabilité est donc un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries à Gram négatif et plus précisément chez *P. aeruginosa* et les *Enterobacteriaceae*, étant donné le large spectre d'antibiotiques qu'elle cible [7]. En outre, on décrit également ce type de phénomène pour expliquer la résistance aux aminoglycosides parmi les germes anaérobies ainsi que le faible niveau de sensibilité clinique (résistance intrinsèque à bas niveau) observé vis-à-vis de cette famille de composés parmi les bactéries anaérobies facultatives telles que les entérocoques et les streptocoques. En effet, cette famille d'antibiotiques pénètre à l'intérieur des cellules bactériennes via un mécanisme de transport dépendant d'un métabolisme aérobie [9].

La paroi des bactéries Gram négatif

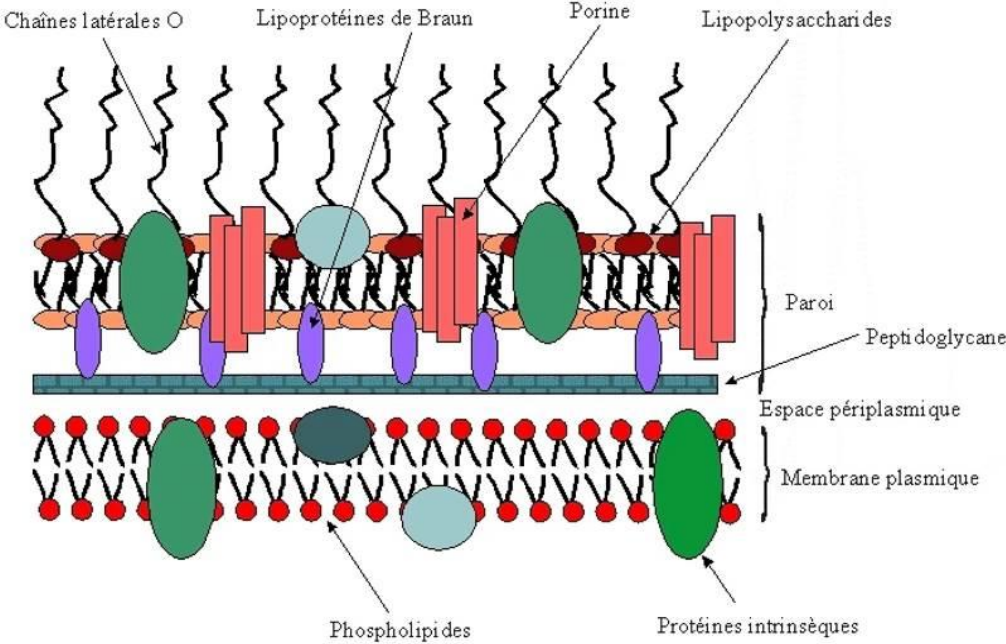


Figure 6 : Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif.

La paroi des bactéries Gram positif

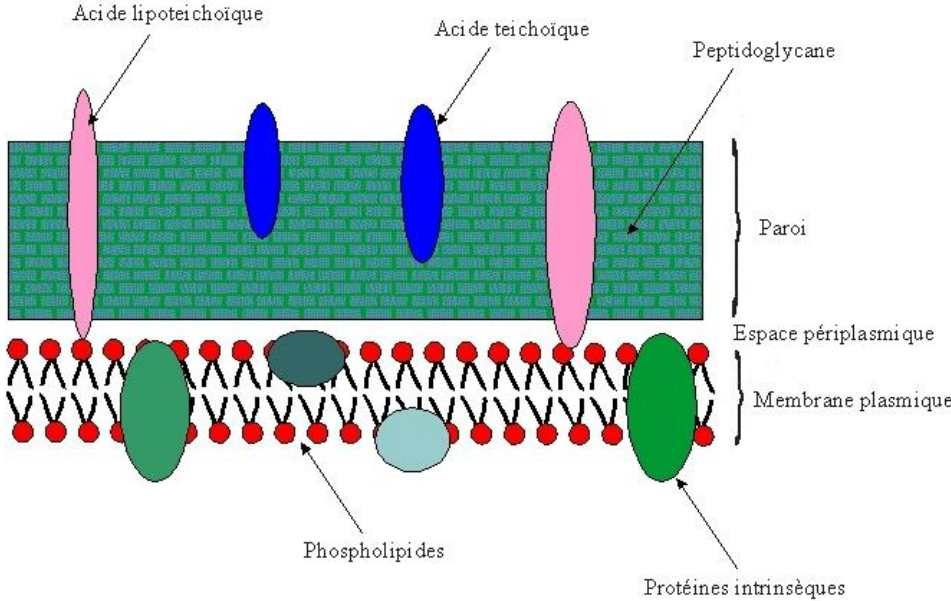


Figure 7 : Structure de la paroi des bactéries à Gram positif.

4.5. Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome [13]. Depuis quelques années, des souches présentant des résistances sub-cliniques dites à bas niveau aux fluoroquinolones ont été observées. Ces résistances sont notamment dues à la présence de gènes plasmidiques Qnr (*Quinolone resistance*) dont 5 groupes existent [14]. Ce mécanisme a été rapporté parmi différentes bactéries à Gram négatif à travers le monde, et des analogues de ces gènes ont également été décrits chez des bactéries à Gram positif [16]. Les protéines qnr en se fixant sur les topoïsomérasés, cibles des fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles [15].

4.6. Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et du triméthoprime ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *S. aureus*, et à la tobramycine chez *E. coli* [8].

Chapitre 2
La résistance
enzymatique

Un des mécanismes de résistance les plus répandues et des plus efficaces consiste, pour les bactéries, à modifier la structure même de l'antibiotique de façon à lui faire perdre sa capacité à se lier à sa cible cellulaire et, par voie de conséquence, à l'inhiber. Il repose sur la production d'enzymes dont l'origine peut être intrinsèque (gène chromosomique appartenant à l'espèce) ou extrinsèque (gène transmis par des plasmides ou des transposons). Ainsi, l'hydrolyse de cycle β -lactame empêche les β -lactamines de se fixer de façon covalente (acylation) sur le site actif des enzymes impliqués dans la synthèse de la paroi, les protéines liant la pénicilline (PLP). Depuis la découverte de la pénicilline à la fin des années 1940, des souches de *Staphylococcus aureus* résistent à la pénicilline G. Plusieurs centaines de β -lactamases ont été identifiées chez diverses espèces bactériennes, pathogènes ou non. Ces enzymes peuvent être classées en fonction de leur spectre d'activité enzymatiques (classification de Richmond-Sykes ou de K. Bush) ou de leur séquence en acides aminés (classification d'Ambler) cette dernière est la plus utilisée. Leurs profils d'hydrolyse conditionnent en grande partie le profil de sensibilité aux β -lactamines des bactéries qui les produisent, leurs surexpressions entraînent des changements précis dans la structure primaire des β -lactamases qui peuvent accroître l'activité de celles-ci vis-à-vis de β -lactamines relativement résistantes à l'hydrolyse enzymatique. Ainsi, dans les années 1980 sont apparues des enzymes dérivant de pénicillinases à spectre restreint (de type SHV, TEM ou OXA par exemple) capables d'inactiver les céphalosporines de troisième génération et nommés pour cette raison β -lactamases à spectre élargi (BLSE) [31].

1. Historique des enzymes de résistance aux bêta-lactamines

1.1. Apparition des enzymes à l'hôpital

L'apparition des bêta-lactamases est très rapide, après le début de l'utilisation massive des bêta-lactamines dans les années 1940 :

- 1928 : découverte par Fleming de la pénicilline,
- 1940 : début de l'utilisation intensive de pénicilline,
- ❖ 1942 : 1^{ère} souche décrite de *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline (pénicilline G),
- 1960 : mise sur le marché de la méticilline,
- ❖ 1962 : isolement de la première souche de staphylocoque résistant à la méticilline (SARM) à Seattle (USA),

- 1961 : mise sur le marché de l'ampicilline, active sur *Escherichia coli*,
- ❖ 1963 : première souche d'*E. coli* productrice de pénicillinase mise en évidence à Londres (Royaume Uni).

Par la suite, on observe l'émergence de bêta-lactamases hydrolysant les céphalosporines de 3ème génération (C3G) dès leur utilisation, les BLSE :

- ❖ 1983 : première description chez *Klebsiella ozaenae* en Allemagne, principalement chez des patients hospitalisés (type SHV),
- ❖ 1984 : première BLSE décrite en France chez *Klebsiella pneumoniae*.
- Dans les années suivantes, apparaissent chez toutes les espèces d'entérobactéries des BLSE en rapport avec l'augmentation importante de l'utilisation des C3G, et avec la nature plasmidique dans la transmission d'espèce à espèce [24] (type CTX-M) [18].
- ❖ Depuis les années 2000, des bêta-lactamases hydrolysant quasiment l'ensemble des bêta-lactamines, y compris les carbapénèmes : les carbapénémases, ont été décrites. Ces enzymes sont d'une grande diversité moléculaire (types KPC, OXA, NDM essentiellement) [25].

1.2. Diffusion des résistances dans la communauté

Les BLSE ont été décrites dans un second temps dans la communauté :

- 1992 : premières souches, dans deux hôpitaux de Buenos Aires en Argentine, de *Salmonella typhimurium* communautaires productrices de type CTX-M chez des patients admis pour des tableaux de septicémies, d'entérites ou de méningites;
- 1996 : première description de BLSE communautaire en Europe, en Pologne (*E. coli* et *Citrobacter freundii*, producteurs de CTX-M-3) [26];
- L'étude des BLSE en France, sur une collection de 2599 entérobactéries décrites par ailleurs et recrutées par huit laboratoires privés du réseau Aquitaine, de janvier à mai 1999 : sur 1584 souches communautaires, 5 souches (0,3%) produisaient des BLSE, toutes retrouvées dans des prélèvements urinaires [27]; en 2006, le taux atteint (1,12%) [19].

2. Définition des bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE)

Les bêta-lactamases sont des enzymes bactériennes qui catalysent l'hydrolyse de la liaison amide du cycle lactame des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (Figure 8). Les gènes qui codent pour ces enzymes sont d'origine chromosomique ou plasmidique. Ces gènes ont aussi été détectés sur des transposons et des intégrons facilitant ainsi le transfert horizontal de ces gènes entre espèces phylogénétiquement éloignées. Ces enzymes sont

exportés dans le milieu extracellulaire (bactéries à gram positif) ou périplasmique (bactéries à gram négatif). La production des bêta-lactamases est le mécanisme de résistance le plus répandu et le plus important des bactéries vis-à-vis des bêta-lactamines [28]. Plusieurs type de bêta-lactamases sont décrites et répertoriées (www.lahey.org/studies/inc_webt.html). Les bêta-lactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse de la liaison amide du cycle bêta-lactame donnant un produit biologiquement inactif qui perd totalement son activité antimicrobienne [29].

La dissémination des bêta-lactamases communes et l'apparition de nouveaux enzymes ou d'enzymes mutants sont reliées directement à l'utilisation abusive des bêta-lactamines dans le domaine de la santé humaine et animale et en agriculture [20].

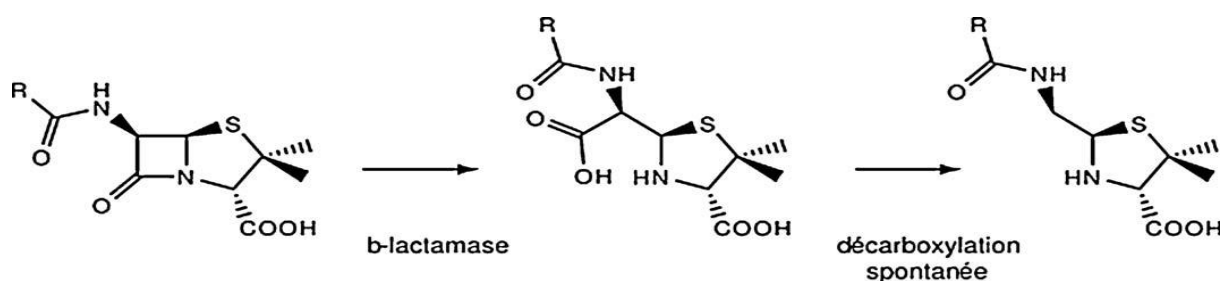


Figure 8 : Mécanisme d'hydrolyse d'une β -lactamine par une β -lactamase.

Les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) sont une grande famille très hétérogène d'enzymes bactériennes découverte dans les années 80 en Allemagne, puis en France. Elles sont induites soit par des plasmides (80 %), soit par la mutation du génome naturel chez *Klebsiella spp*, codant pour une bêta-lactamase SHV. Les deux mécanismes confèrent aux bactéries touchées la capacité d'hydrolyser une grande variété de pénicillines et de céphalosporines. La majorité des BLSE sont le résultat de mutations génétiques de bêta-lactamases naturelles, en particulier de TEM-1, TEM-2 et SHV-1. Elles sont très actives contre les pénicillines et moyennement actives contre les céphalosporines de première génération. Les mutations génétiques à l'origine des BLSE élargissent le spectre de ces enzymes et touchent également les céphalosporines de troisième génération (ceftazidime et céfotaxime) et les monobactames (aztréonam). Les bactéries produisant une BLSE n'hydrolysent pas les céphamycines (céfoxitine) ni les carbapénèmes (imipénem) et elles sont inhibées par les inhibiteurs : l'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam, La présence de BLSE est fréquemment associée à la résistance aux aminosides, fluoroquinolones [30], et à la résistance à d'autres antibiotiques.

Pratiquement tous les germes à Gram négatif possèdent un gène chromosomique qui code pour une céphalosporinase, en général de faible expression et sans hydrolyser efficacement les

La résistance enzymatique (BLSE)

céphalosporines. Mais les *Enterobacter*, *Serratia* et *Citrobacter* produisent des céphalosporinases inductibles, pas faciles à détecter au laboratoire. Sous traitement aux céphalosporines, ces germes peuvent donc développer une résistance (inductible) à toutes les céphalosporines et elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique (tableau 1). Elles restent cependant sensibles aux carbapénèmes.

Tableau 1 : principales béta-lactamases et leurs inhibiteurs

Enzyme	Activité enzymatique préférentielle					Inhibiteurs	
	Pénicilline	C1G	C3G	Aztréonam	Imipénem	Clavulanate	EDTA
Pénicillines à spectre restreint (exemple: TEM-1, SHV-1)	+++	+/-	-	-	-	+++	-
Céphalosporinases (exemple: Enterobacter)	++	+++	+	-	-	-	-
Bétalactamases à spectre élargi Dérivés de TEM, SHV	+++	++	++	++	-	+++	-
Métallo-bétalactamases Carbapénémase	++	++	++	-	++	-	++

C1G : céphalosporinase de 1^{er} génération; C3G : céphalosporinase de 3^{eme} génération ; EDTA : acide éthylène diamine tétra acétique.

L'augmentation du taux d'infections par des bactéries productrice de BLSE a pour conséquence un risque élevé d'échec clinique lors des traitements empiriques avec les céphalosporines ou les quinolones [21].

Une bactérie qui produit une β -lactamase donnée résiste qu'à certaines β -lactamines. Certaines β -lactamases sont inductibles, et certaines β -lactamines (comme la céfoxitine, l'imipénème) sont des bons inducteurs (figure 9).

La résistance enzymatique aux β -lactamines, pose problème en chimiothérapie. Dans certains cas, il est possible de contourner ce problème en utilisant d'autres antibiotiques. Une autre possibilité consiste à employer ce qu'on appelle des β -lactamines à spectre étendu, résistantes à la ou aux β -lactamases produites par le pathogène en question on peut aussi recourir à une combinaison des antibiotiques, comme l'Augmentin, qui contient de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique. (Figure 9).

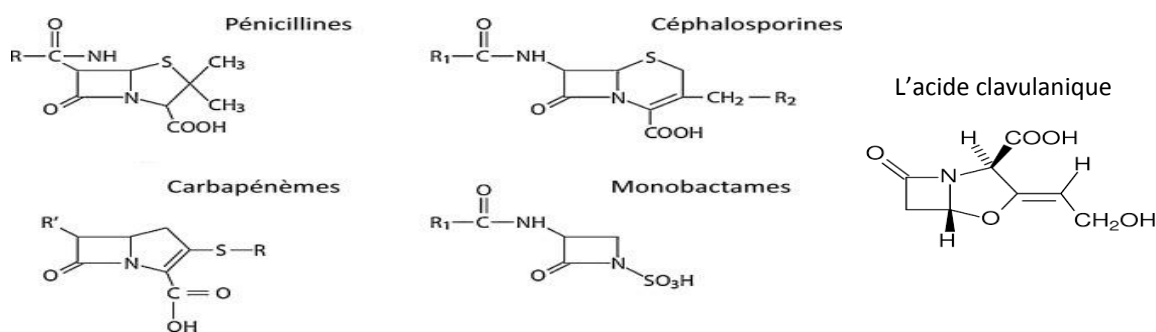


Figure 9 : les antibiotiques à noyau β -lactame ou β -lactamines

Malheureusement, ces deux dernières approches de chimiothérapie créent une pression sélective qui pousse l'évolution des β -lactamases vers des formes dites à spectre étendu. Ces β -lactamases sont maintenant capables de cliver certaines des nouvelles β -lactamines et de résister à l'inactivation par les inhibiteurs de β -lactamases.

La résistance aux céfépime, une céphalosporine de la quatrième génération, est due à une hyperproduction de SHV-5. TEM-50 (qui confère la résistance aux inhibiteurs) et SHV-18 (une enzyme plasmidique de *klebsiella pneumoniae*).

Les plasmides qui portent des β -lactamases à spectre étendu contiennent souvent d'autres gènes de résistance aux antibiotiques, ce qui limite le choix pour le traitement. Des taux de décès plus élevés sont observés dans le cas d'infections dues à des souches d'*Acinetobacter* et de *Pseudomonas aeruginosa*, qui codent pour des β -lactamases à spectre étendu de type PER-1 [17].

3. La classification des BLSE

La diversité des β -lactamases a entraîné de nombreuses tentatives de classification. Deux sont actuellement utilisés, Dans les deux cas, l'inactivation des β -lactamines est due de cycle β -lactame au niveau de la liaison amide, selon une réaction d'hydrolyse suite à l'activation d'une molécule d'eau. (Tableau 2) : la classification structurale d'Ambler (Figure 10) [33] qui est basée sur la séquence primaire en acides aminés d'éléments Conservés de site actif, Le processus enzymatique repose sur un résidu sérine actif chez les enzymes les plus fréquentes ou sur un ion métallique Zn^{2+} . Et la classification fonctionnelle de Bush [34] qui repose sur l'activité hydrolytique et la sensibilité des β -lactamases aux inhibiteurs (tels que le clavulanate et l'EDTA qui complexent des cations divalents).La classification d'Ambler définit quatre classes d'enzymes désignée de A à D. Les protéines de classes A, C et D sont les enzymes à sérine active et les enzymes de classe B correspondent aux métalloenzymes à zinc.

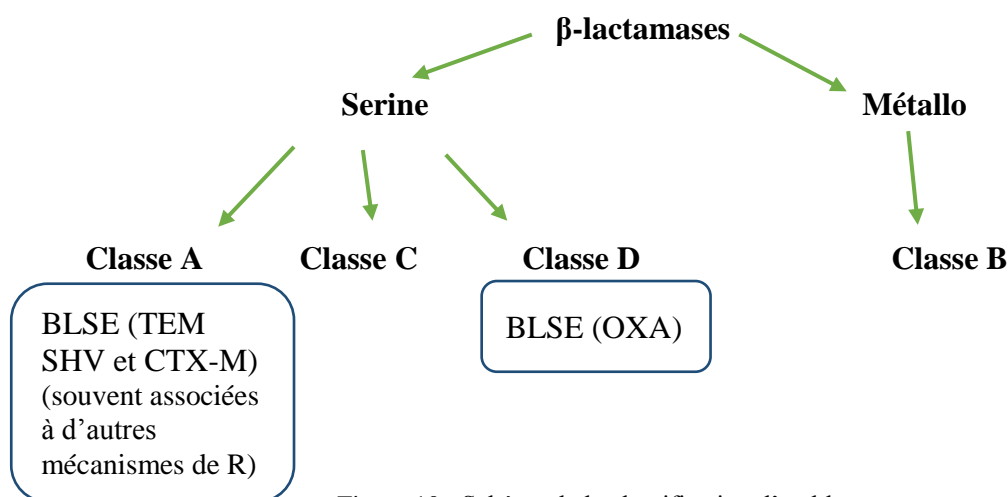


Figure 10 : Schéma de la classification d'ambler

La classification de Bush rend compte de la diversité fonctionnelle des β-lactamases au sein de ces 4 classes structurales et notamment dans la classe A qui est subdivisée en 6 groupes fonctionnels (Tableau 2) :

- Le groupe fonctionnel 2a qui rassemble les pénicillines à spectre étroit (Pénicilline de *Staphylococcus aureus*) [35] sensibles à l'acide clavulanique et dont le spectre d'hydrolyse se limite aux seules pénicillines.
- Le groupe fonctionnel 2b qui correspond aux pénicillines à large spectre telles que les enzymes TEM-1, TEM-2 et SHV-1. Elles sont sensibles au clavulanate, possèdent un spectre élargi aux céphalosporines de première génération (C1G) et, dans une moindre mesure, aux céphalosporines de deuxième génération (C2G) n'appartenant pas aux céphamycines.
- Le groupe fonctionnel 2be qui correspond aux β-lactamases à spectre étendu (BLSE) de classe A. Elles sont sensibles au clavulanate et leur spectre recouvre l'ensemble des pénicillines et des céphalosporines, à l'exception des céphamycines.
- Le groupe fonctionnel 2br qui rassemble des enzymes résistantes aux inhibiteurs et, pour la plupart, dérivés par mutation ponctuelle des pénicillines TEM-1 et TEM-2. Ces enzymes appelées TEM Résistantes aux inhibiteurs (TRI ou IRT) possèdent une efficacité hydrolytique amoindrie sur les céphalosporines par rapport à TEM-1 ou TEM-2.
- Le groupe fonctionnel 2c qui correspond aux carbénicillinasés ou enzymes de type CARB (ou PSE). Poche des enzymes TRI, elles présentent une sensibilité réduite au clavulanate. Cependant, elles s'en distinguent par une activité hydrolytique plus importante sur les carboxypénicillines que sur la benzylpénicilline.

- Le groupe 2e qui correspond à des enzymes, souvent appelés céfuroximasés, sensibles au clavulanate et actives sur les aminopénicillines (à moindre niveau sur les uréide- et carboxypénicillines) les céphalosporines de première et seconde génération (C1G et C2G), à l'exception des céphamycines.
- Le groupe 2f qui correspond aux carbapénémases de classe A. Elles sont plus ou moins sensibles au clavulanate et actives sur les pénicillines, les céphalosporines, l'aztréonam et les carbapénèmes.

Les enzymes de classe B ou groupe fonctionnel 3 comprennent les carbapénémases résistantes au clavulanate et sensibles à l'action inhibitrice de l'EDTA. Elles présentent un large spectre d'action qui comprend les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes mais pas l'aztréonam.

Les enzymes de classe C sont les céphalosporines de type AmpC qui forme un ensemble hétérogène d'enzymes appelé le groupe fonctionnel 1 dans la classification de Bush. Ces enzymes sont résistantes aux β -lactamines inhibitrice. Leurs spectres d'hydrolyse comprennent les aminopénicillines, C1G et selon la nature de l'enzyme les C2G dont les céphamycines. Les enzymes AmpC hydrolysent dans une moindre mesure les carboxy-pénicillines, les uréidopénicillines et les C3G, les enzymes hyperproduites pourront inactiver efficacement ces substrats. Elles ne confèrent généralement pas de résistance aux carbapénèmes et aux C4G (céfépime et cefpirome). Ces dernières peuvent toutefois être inactivées par de rares enzymes AmpC mutantes.

Les enzymes de classe D comprennent les oxacillinases (OXA) correspondant au groupe fonctionnel 2d de la classification de Bush. Elles possèdent une activité hydrolytique plus importante sur les isoxazolyl-pénicillines, comme l'oxacilline, que sur la benzylpécillines, la plupart s'apparentent aux enzymes du groupe 2br par leur résistance au clavulanate et leur spectre d'action toutefois, les oxacillinases confèrent une diminution, souvent discrète, de la sensibilité aux C4G, ce qui permet parfois de les distinguer des enzymes TRI. Certaines oxacillinases possèdent en outre un spectre étendu aux, C2G, C3G et C4G (BLSE de classe D) mais elles n'ont pas été rapportées jusqu'alors chez les entérobactéries. D'autres, comme OXA-23, possèdent une faible activité carbapénémase, sans conséquence clinique apparente à ce jour chez les entéobactéries.

Tableau 2 :Classification des β -lactamases d'après Ambler et Bush (1, 6, 14). L'efficacité enzymatique des β -lactamases et l'activité des molécules inhibitrices sont indiquées de façon semi-quantitative par les signes + et -.

Classification		Enzyme	Activité enzymatique préférentielle						Activité inhibitrice			
Structurale d'Ambler	Fonctionnelle de Bush		Pénicilline	Carboxypénicilline	Oxacilline	C1G ^A	C3G	Aztréonam	Imipénème	Clavulanate	EDTA	
A	2a	Pénicillines à spectre restreint	+++	++	-	+/-	-	-	-	+++	-	
	2b	Pénicillines à large spectre	+++	++	+	++	-	-	-	+++	-	
	2be	β -lactamases à spectre étendu	+++	++	+	++	++	++	-	+++	-	
	2br	TEM résistantes aux inhibiteurs	+++	++	+	+/-	-	-	-	-	-	
	2c	Carbénicillinases	++	+++	+	+	-	-	-	+	-	
	2e	Céfuroximases	++	++	--	++	+	-	-	+++	-	
C	2f	Carbapénémases	++	+	?	+	+	++	+	+	-	
	1	Céphalosporinases	++	+	-	+++	+	-	-	-	-	
D	2d	Oxacillinases++	+	+++	V	V	-	-	-	-	-	
	3	Carbapénémases	++	+	++	++	++	-	-	-	++	

^A C1G, céphalosporine de premier génération ; C2G, céphalosporine de deuxième génération

4. Détection des BLSE

Le laboratoire de microbiologie joue, un rôle primordial dans la détection des différentes classes de bêta-lactamases. La collaboration des microbiologistes et des cliniciens est indiscutable pour assurer le succès thérapeutique avec un traitement approprié [36].

- ❖ La production de β -lactamases se détecte facilement au laboratoire. Une méthode consiste à employer une céphalosporine chromogénique, la nitrocéfine (Oxoid, Basingstoke, UK), qui passe du jaune au rouge lorsqu'elle est clivée par une β -lactamase. Une goutte de nitrocéfine, déposée sur une colonie de producteurs de β -lactamases, vire au rouge, soit rapidement, soit après ~ 30 minutes d'incubation [37] (test céfinase : figure 11 et 12 annexe 3). Une résistance bactérienne aux β -lactamines, due aux β -lactamases inductibles, peut se détecter par la méthode des disques (test de diffusion : figure 13 annexe 3) [37], c'est les différentes détections à l'antibiogramme.
- ❖ Bien que la plupart des BLSE et des céphalosporinases hyperproduites confèrent une résistance à une ou plusieurs oxyiminocéphalosporines, ces enzymes n'entraînent pas toujours une augmentation suffisante des CMI (de 0,5 à > 64 mg/L) pour faire classer les bactéries comme toujours résistantes à ces antibiotiques. En outre, le comportement de ces enzymes est différent vis-à-vis des C4G. Il est donc essentiel d'utiliser des tests spécifiques permettant de les détecter et de les différencier. Actuellement, cette distinction repose essentiellement sur la mise en évidence des BLSE.
 - 1- Le CLSI propose une méthode de détection des BLSE en deux temps validée à ce jour pour les espèces *E. coli*, *K. pneumoniae* et *K. oxytoca*. Le premier temps consiste à sélectionner les souches présentant des CMI > 8 mg/L (diamètre critique < 17 mm) pour le cefpodoxime ou > 2 mg/L pour la ceftazidime (diamètre critique < 22 mm), le céfotaxime (diamètre critique < 27 mm), la ceftriaxone (diamètre critique < 25 mm) ou l'aztréonam (diamètre critique < 27mm) en utilisant la méthode de dilution en milieu liquide (ou la technique des disques). Une diminution du seuil de détection est actuellement en discussion. [38]
 - 2- La production de BLSE est confirmée dans un deuxième temps par une diminution des CMI du céfotaxime ou de la ceftazidime d'au moins trois dilutions en présence de clavulanate (4 mg/L). La diminution des CMI par le clavulanate peut être mise en évidence par la méthode de dilution en milieu liquide, à l'aide du système E-Test ESBL ou par la technique des disques combinés.

- 3- la technique des disques combinés est à la fois simple, performante et économique, repose sur la comparaison des diamètres d'inhibition obtenus avec des disques contenant la β -lactamine antibiotique seule (30 μ g) ou associée à une β -lactamine inhibitrice telle que le clavulanate (10 μ g). Une augmentation du diamètre ≥ 5 mm en présence de clavulanate confirme la production de BLSE (Fig. 4c).[38]
 - 4- Le CA-SFM propose une détection directe des BLSE chez toutes les espèces d'entérobactéries. Elle repose sur la mise en évidence d'une synergie entre des disques de (C3G)céfotaxime, de ceftazidime, de céfépime ou d'aztréonam et un disque contenant du clavulanate. [39]
 - 5- Le bouchon de champagne : Un espace de 3 cm est recommandé entre le centre des disques. Ainsi pratiqué, le test de synergie manque de sensibilité. Des faux négatifs peuvent survenir si l'enzyme possède une diminution de sensibilité aux inhibiteurs ou si la BLSE est associée à l'hyperproduction d'une céphalosporinase de classe C. Une distance de 2 cm permet d'améliorer la détection. [40]
 - 6- Dans le cas d'une céphalosporinase hyperproduite, le céfépime ou le cefpirome, peu sensibles aux céphalosporinases, sensibilisent la détection et doivent être utilisés. Si un doute persiste, le test de synergie et l'antibiogramme complet peuvent être réalisés en présence de cloxacilline (50-300 mg/L) afin d'inhiber l'enzyme de classe C, particulièrement pour les entérobactéries du groupe 3. Des faux négatifs peuvent également apparaître si la production de la BLSE est faible, comme souvent l'enzyme TEM-3 chez *P. mirabilis*. [39, 40]
 - 7- Un espace inter disque de 4 cm est alors plus approprié. Les BLSE de type TEM étant souvent associées à la production d'une enzyme AAC1, une résistance à la tobramycine, la nétilmicine et l'amikacine doit inciter à la réalisation d'un test de synergie ainsi modifié, particulièrement chez les espèces du groupe des *Proteae*. Ces ajustements de la distance et l'utilisation de la cloxacilline permettent de faire de la technique du double disque une des meilleures et peut-être, la meilleure méthode de détection, mais elle est fastidieuse en pratique de routine et nécessite une certaine expérience.
- ❖ L'utilisation de la technique des disques combinés ou le E-test ESBL (qui est parfois difficile à lire) est une alternative à la pratique du test de synergie ordinaire. Elle permettrait d'améliorer la détection (sensibilité 95-98 %) tout en conservant une bonne praticabilité et un coût raisonnable. Au moins 2 couples de disques doivent être utilisés

pour obtenir une sensibilité satisfaisante : céfotaxime et céfotaxime-clavulanate d'une part, et ceftazidime et ceftazidime-clavulanate d'autre part.

- ❖ Les automates (figure 14 annexe 3) utilisent diverses stratégies pour différencier les BLSE des céphalosporinases hyperproduites. Elles reposent sur la comparaison du phénotype de résistance de la souche étudiée avec des phénotypes de référence et/ou l'utilisation de tests spécifiques basés sur la différence de sensibilité des céphalosporinases et des BLSE aux β -lactamines inhibitrices. Trois types de réponse sont proposés : production de BLSE, hyperproduction de céphalosporinase ou phénotype de résistance indéterminé. Ce dernier cas de figure est plus fréquemment rencontré en l'absence de tests analysant la sensibilité aux β -lactamines inhibitrices. Ces tests doivent alors être entrepris à l'aide de techniques proposées par les fabricants d'automates ou à l'aide des techniques manuelles décrites ci-dessus [34].

Globalement, les performances des automates semblent comparables et le pourcentage de phénotypes correctement identifiés est en moyenne $> 90\%$ [41,42]. Ces données montrent tout l'intérêt de ces techniques. Cependant, ce pourcentage varie selon le protocole utilisé et surtout les souches incluses dans l'étude. Ce pourcentage peut être compris entre 98 et 100 % des souches étudiées pour les espèces telles que *E. coli* et *K. pneumoniae* mais varier entre < 80 et 90% pour les souches hyperproductrices de céphalosporinase comme avec les espèces du genre *Enterobacter* [40, 44, 45]. De plus, ces études n'incluent pas, ou très rarement des souches productrices de BLSE de détection difficile suite à un défaut de production (ex. *P. mirabilis* producteurs de la BLSE TEM-3) ou à une diminution de la sensibilité aux β -lactamines inhibitrices (ex. souches productrices de CMT).

La confirmation de la nature des mécanismes de résistance nécessitera des analyses moléculaires complémentaires qui sortent de la pratique de l'antibiogramme.

5. Les bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu

5.1. Les entérobactéries

Du fait de leur diversité, leur faible toxicité, leur activité bactéricide et leur large spectre d'action, les β -lactamines sont parmi les antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des infections causées par les *Enterobacteriaceae*. L'efficacité des β -lactamines dépend d'au

moins trois facteurs : la quantité d'antibiotique au contact de la cible, l'affinité de l'antibiotique pour la cible et la production de β -lactamase inactivant l'antibiotique.

Ces facteurs sont responsables soit d'une résistance naturelle, et donc présents chez toutes les souches de l'espèce, soit d'une résistance acquise par certaines souches, suite à l'apparition de mutations ou à l'acquisition de matériel génétique tels que des plasmides, des transposons ou des intégrons. Pour chaque espèce, on distingue donc un phénotype sauvage *de résistance aux* β -lactamines ou « phénotype sensible » et des phénotypes de résistance acquise ou « phénotypes résistants ». La résistance peut s'exprimer à bas niveau *in vitro* pour certaines molécules, mais être responsable d'échecs thérapeutiques. La connaissance des phénotypes de résistance permet :

- D'établir la liste des β -lactamines pas à étudier mais à utiliser
- De contrôler la cohérence entre l'identification et le phénotype de résistance
- De pallier les imperfections des tests de sensibilité *in vitro* par l'application de règles de lecture interprétative
- De guider le choix thérapeutique.

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux pénicillines des groupe G, V et M. Les phénotypes de résistance seront donc définis à l'aide des β -lactamines appartenant aux autres groupes de pénames seules et associées aux inhibiteurs des β -lactamases : aminopénicillines (amoxicilline), carboxypénicilline (ticarcilline), uréidopénicilline (pipéracilline); aux céphalosporines de première génération (céfalotine), de deuxième génération (céfuroxime et pour les céphamycines, la céfoxitine), de troisième génération (céfotaxime et ceftazidime), de quatrième génération (céfépime et cefpirome); aux monobactames (aztréonam) et aux carbapénèmes (imipénème).[31]

5.1.1. Phénotypes de résistance des entérobactéries

A-Résistance naturelle ou phénotypes « sauvages »

Les entérobactéries produisent naturellement diverses β -lactamases se qui permet de les classer en quatre groupes phénotypiques de résistance (tableau 3).

Tableau 3 : Phénotypes de résistance «sauvage» des entérobactéries aux β -lactamines. La flèche indique les interprétations préconisées.

Antibiotique ^a	Phénotype du groupe :						
	0	1	2	3	4	5	6
Aminopénicillines	S	S/I	R	R	R	R	R/I→I
Aminopénicillines + CLA	S	S/I	S	R	R	R	S/I
Carboxypénicillines	S	S	R	S	R	S	R/I→I
Carboxypénicillines + CLA	S	S	S	S	S	S	S
Uréidopénicillines	S	S	S→I	S	S→I	S	I/S ? I
Uréidopénicillines + TAZ	S	S	S	S	S	S	S
C1G	S	S/I	S	R	R	R	R/I
C2G	S	S	S	R/I/S ^b	Sc	R	R/I/I → I
Céfoxitine	S	S	S	R/I/S ^b	S	S	S
C3G	S	S	S	S	S	S	S → I ^d /I
C4G	S	S	S	S	S	S	S → I ^d /I
Carbapénèmes	S	S	S	S	S	S	S

^aCLA, clavulanate ; CXG, Céphalosporine, de X^e génération ; TAZ, tazobactam.

^b Résultat fonction de l'espèce de l'isolat.

^c S → I ou I pour *S. fonticola*.

^d Si le test de synergie est positif pour au moins une C3G, une C4G ou l'aztréonam.

a-Groupe 0 : Phénotype « sensible » d'espèces dépourvues de gènes de β -lactamase

Salmonella spp. et *P. mirabilis* sont dépourvus de β -lactamase à l'état « sauvage » et sont naturellement sensibles aux aminopénicillines, carboxypénicillines, uréidopénicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines et aux carbapénèmes.

Les diamètres d'inhibition de l'imipénème sont souvent réduits pour l'espèce *P. mirabilis*, comme pour d'autres espèces de la tribu des *Proteae*. La faible affinité de cette molécule pour la PLP2 de ces espèces serait responsable de cette diminution. Cette moindre sensibilité à l'imipénème est cependant sans conséquence clinique, contrairement à la résistance acquise par mutation de la PLP2 [37].

b-Groupe 1 : Phénotype « sensible » d'espèces produisant naturellement une céphalosporinase de classe C

Comme les espèces précédentes, *E. coli* et *Shigella spp.* Sont naturellement sensibles aux aminopénicillines, carboxypénicillines, uréidopénicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines

et aux carbapénèmes. Cependant, elles produisent à très bas niveau une céphalosporinase chromosomique non inductible de type AmpC (groupe fonctionnel 1) qui peut entraîner, chez certaines souches, une réduction de la sensibilité aux aminopénicillines, à leurs associations au clavulanate et/ou aux C1G.

La fréquence du phénotype « sauvage » chez *E. coli* est en moyenne de 50 % en milieu hospitalier [46].

c-Groupe 2 : Phénotype « pénicillinase bas niveau »

Klebsiella pneumoniae, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter amalonaticus* et *Escherichia hermanni* produisent naturellement et de façon constitutive (non induite par les β -lactamines, excepté chez *C. amalonaticus*) des enzymes chromosomiques de classe A sensibles aux inhibiteurs : SHV-1 (groupe fonctionnel 2b) ou LEN-1 (groupe 2a) pour *K. pneumoniae* ;

Elles confèrent une résistance patente aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines et souvent inapparente aux uréidopénicillines. Ce phénotype de résistance, appelé « pénicillinase de bas niveau », se caractérise par la persistance d'un diamètre d'inhibition autour des disques d'aminopénicillines (contrairement au phénotype « pénicillinase haut niveau ou pénicillinase acquise » caractérisé par l'absence de diamètre d'inhibition autour de ces disques). Les associations pénicillines-inhibiteurs sont actives.

-Règles de lecture interprétative : La résistance aux pénicillines, et tout particulièrement aux uréidopénicillines, peut être de très bas niveau [39]. Tous les résultats « sensibles » doivent être interprétés « intermédiaires » pour ces molécules chez les espèces appartenant au groupe 2 [38].

d-Groupe 3 : Phénotype « céphalosporinase de bas niveau »

Les entérobactéries appartenant à ce groupe réunissent des espèces productrices de céphalosporinases de classe C (AmpC, groupe fonctionnel 1) chromosomiques et inductibles par les β -lactamines (molécules fortement inductrices : céfoxitine, imipénème, clavulanate). Ces céphalosporinases sont très répandues chez les entérobactéries isolées en bactériologie clinique : *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens* (et les autres espèces de ce genre), *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Hafnia alvei*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri* et *Pantoea agglomerans*.

Le phénotype « sauvage » de ces espèces, souvent appelé « céphalosporinase de bas niveau », comprend une résistance aux aminopénicillines, à leurs associations aux B-lactamines inhibitrices et aux C1G. Le comportement vis-à-vis des C2G et des céphamycines permet de répartir les espèces en 3 sous-groupes : (i) les espèces sensibles au céfuroxime (C2G) et à la céfoxitine (céphamycine) : *H. alvei*, *P. rettgeri*, *P. stuartii* et *P. agglomerans* ; (ii) les espèces plus résistantes à la céfoxitine qu'au céfuroxime : *E. cloacae*, *E. aerogenes* et *C. freundii* ; et (iii) les espèces plus résistantes au céfuroxime qu'à la céfoxitine : *S. marcescens* et *M. morgani*.

Les espèces *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* appartenaient initialement à ce groupe. Pour des raisons phénotypiques et moléculaires, il est plus cohérent de les inclure dans un nouveau groupe 5 correspondant au phénotype « céfuroximase ».

e-Groupe 4: *Yersinia enterocolitica* et *Serratia fonticola*

Yersinia enterocolitica et *Serratia fonticola* produisent naturellement une céphalosporinase inductible de classe C (groupe fonctionnel 1) et une enzyme de classe A. Chez *Y. enterocolitica*, cette dernière est une pénicillinase constitutive de classe A produite à bas niveau (groupe fonctionnel 2b). Chez *S. fonticola*, l'enzyme de classe A est une β -lactainase inductible de la classe 2be (SFO-1 et apparentées).

Y. enterocolitica est résistante aux aminopénicillines, à leur association avec le clavulanate, aux carboxypénicillines et aux C1G. La résistance aux unéidopénicillines n'apparaît pas *in vitro*. Le phénotype de résistance de *S. fonticola* est similaire. Cependant, le céfuroxime n'est pas actif et la résistance à l'association aminopénicilline- β -lactamine inhibitrice, qui devrait normalement être induite par l'enzyme Ampc, ne s'exprime pas ou à très bas niveau *in vitro*.

f-Groupe 5 : Phénotype « céfuroximase »

P. vulgaris et *P. penneri* produisent naturellement une céphalosporinase de classe A inductible par les β -lactamines souvent appelée céfuroximase (groupe fonctionnel 2e). Le phénotype se caractérise par une résistance aux aminopénicillines, aux C1G, aux C2G (céfuroxime, céfamandole) à l'exception des céphamycines (céfoxitine) et une sensibilité aux associations pénicillines- β -lactamines inhibitrices.

g-Groupe 6 : Phénotype « B-lactamase à spectre étendu chromosomique »

Les entérobactéries *Kluyvera ascorbata*, *Kluyvera cryocrescens*, *Kluyvera georgiana*, *Rahnella aquatilis*, *Citrobacter sedlakii* et *Erwiniapersicina* produisent naturellement des B-lactamases

à spectre étendu de classe A (groupe 2be). Ces BLSE, souvent exprimées à bas niveau, confèrent une diminution de sensibilité ou une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines, aux C1G et aux C2G, à l'exception des céphamycines. La résistance aux uréidopénicillines et aux C3G est souvent inapparente. Aucune règle de lecture interprétative n'a été proposée à ce jour pour ces espèces. L'activité des enzymes produites suggère une interprétation des résultats « sensibles » en « intermédiaire » pour les pénicillines, de même pour les C3G si le test de synergie est positif (voir ci-dessous : Phénotype « B-lactamase à spectre étendu »). [31]

B-Résistance acquise ou phénotypes résistants

a-Phénotype pénicillinase de haut niveau ou pénicillinase acquise

Le phénotype « pénicillinase de haut niveau » est d'expression variable selon la nature du promoteur des gènes de structure, le nombre de copies des gènes et l'espèce bactérienne (Tableau 4). L'expression est souvent faible chez *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M.morganii* et *Providencia*. Le phénotype de résistance se présente donc sous différentes formes qui évoluent entre deux extrêmes :

- Une activité pénicillinase faible responsable d'une résistance limitée aux aminopénicillines (le diamètre d'inhibition est généralement absent contrairement à ce qui est observé dans la résistance naturelle des espèces du groupe 2) et aux carboxypénicillines. La sensibilité aux uréidopénicillines et C1G apparaît peu ou pas affectée.
- Une activité pénicillinase forte responsable d'une résistance aux aminopénicillines, à leur association aux inhibiteurs, aux carboxypénicillines, aux uréidopénicillines et aux C1G

(Fig. 1a). Une diminution de la sensibilité est communément observée pour les associations ticarcilline-clavulanate et pipéracilline-tazobactam. La résistance peut s'étendre aux C2G, principalement chez *Klebsiellaspp*, *Enterobacterspp*. et *C. freundii*. [31]

-Règles d'interprétation

En raison des enzymes impliquées dans ce phénotype, il est recommandé d'interpréter les résultats « sensibles » en « intermédiaires » pour toutes les pénicillines si la production d'une pénicillinase est suspectée [38, 39].

b-Phénotype pénicillinase résistante aux inhibiteurs

Le Phénotype « pénicillinase résistante aux inhibiteurs » a été initialement décrit chez *E. coli* en 1991. Il comporte une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et à moindre niveau, aux uréidopénicillines, comme dans le phénotype précédent aux associations des aminopénicillines et des carboxypénicillines avec les β -lactamines inhibitrices alors que les CIG conservent généralement leur efficacité. (fig 15 annexe 3)

c-Phénotype β -lactamase à spectre étendu

Le Phénotype « β -lactamase à spectre étendu » (BLSE) (tableau 5) comprend une résistance aux pénicillines et aux céphalosporines à l'exception des céphamycines (fig 16,17 annexe 3). Cependant, la résistance aux C3G, C4G et l'aztréonam est plus ou moins marquée selon les enzymes et les souches (CMI de <1 à 128 mg/l). En règle générale, cette résistance est apparente pour au moins une de ces molécules, sauf quand l'expression est très faible comme parfois chez *P. mirabilis* (Fig 18 annexe 3). La plupart des BLSE sont plus sensibles aux β -lactamine inhibitrices que les pénicillinases à large spectre TEM-1 et SHV-1.

Quelques BLSE, comme les enzymes CMT (Complex mutant TEM), présentent cependant une sensibilité diminuée aux inhibiteurs. L'efficacité des associations pénicillines β -lactamine inhibitrices reste généralement suffisante pour être à la base de la détection de ce phénotype qui repose sur la mise en évidence d'une image de synergie entre les inhibiteurs et les C3G et/ou les C4G et/ou L'aztréonam.

Les carbapénèmes et les céphamycines ne sont généralement pas hydrolysés par les BLSE. Toutefois, une diminution de la sensibilité à ces molécules a récemment été rapportée en Europe et au Japon chez *E. coli* et *K. pneumoniae*. Ces souches produisaient des enzymes possédant une faible activité carbapénémase et dérivées par mutations ponctuelle des BLSE de type GES (cf. carbapénémase de classe A). (fig 19 annexe 3)

Tableau 4 : Phénotype de résistance «β-lactamases à spectre étendu» des entérobactéries. La flèche indique les interprétations préconisées et les résultats rarement observés.

Antibiotique	Phénotype «β-lactamases à spectre étendu» du groupe		
	0 et 1	2	3 et 5
Aminopénicillines	R	R	R
Aminopénicillines clavulanique + acide	S/I/R	S/I/R	R ^a
Carboxypénicillines	R	R	R
Carboxypénicillines clavulanique + acide	S/I/R	S/I/R	S/I/R
Urédopénicillines	R	R	R
Urédopénicillines + tazobactam	S/I (R)	S/I (R)	S/I (R)
Céphalosporines de1^{er} génération	R	R	R
Céphalosporines de2^e génération	R	R	R
Céfoxitine	S	S	S/I/R ^b
Céphalosporines de3^e génération	R ^c /I/S → I	R ^c /I/S → I	R ^c /I/S → I
Céphalosporines de4^e génération	R ^c /I/S → I	R ^c /I/S → I	R ^c /I/S → I
Carbapénèmes	S	S	S

^aS/I/R pour les espèces *P. vulgaris* et *P. penneri*.

^b Résultat fonction de l'espèces et de l'isolat.

^c Au moins une céphalosporine de 3^e génération n'est pas active saut chez certaines espèces de la tribu des Proteae, notamment *P. minrabilis*.

❖ Interprétation :

Bien que conférant des CMI parfois très faibles, les BLSE sont à l'origine de nombreux échecs thérapeutiques. A l'exception des associations aux β-lactamine inhibitrices, des céphamycines et des carbapénèmes, les β-lactamines, ne doivent pas être rendues « sensibles » mais « intermédiaires », si le test de synergie est positif pour au moins une C3G, C4G ou l'aztréonam [38, 39].

Des entérobactéries comme *S. fonticola*, *K. ascorbata*, *K. cryocrescens*, *E. persicina*, *R. aquatilis*, *C. sedla kii*, *Citrobacer* du groupe 2, *P. vulgaris* et *P. penneri*, produisent naturellement d'authentiques BLSE ou des enzymes proches. Ces BLSE, souvent exprimés à bas niveau, peuvent soit passer inaperçues, soit positiver le test de synergie. Dans ce cas, il semble souhaitable d'appliquer les règles interprétatives énoncées précédemment pour les BLSE acquises.

d-Phénotype céphalosporinase de haut niveau

Le phénotype « céphalosporinase de haut niveau » correspond à une résistance plus ou moins marquée aux pénicillines, aux C1G, aux C2G, à l'aztréonam et à au moins une C3G. Le test de synergie est négatif entre les C3G, les C4G ou l'aztréonam et les β -lactamines inhibitrices (Fig 20 annexe). Les céphamycines ne sont pas actives, exception faite vis-à-vis de l'espèce *H. Alvei* et les C4G restent le plus souvent efficaces. La résistance aux C3G peut être totalement ou partiellement restaurée en présence de cloxacilline (50-300 mg/l.).

❖ Interprétation

Si une entérobactérie est résistante à au moins une C3G et que le test de synergie est négatif les C3G ne doivent pas être rendues « sensibles ». Cette règle interprétative se limite actuellement aux seules souches du groupe 3 productrices d'une AmpC chromosomique et inductible. Cependant, la fréquence croissante de ce phénotype en dehors des espèces du groupe 3 pourrait amener à une extension de cette règle à l'ensemble des *Enterobacteriaceae*. Cependant, il n'existe pas de consensus sur ce point actuellement.

✓ Résistance aux carbapénèmes

De rares souches de *E. cloacae*, *S. marcescens* et *S. fonticola* produisent des carbapénémases de classe A chromosomiques et inductibles par les β -lactamines (les enzymes NMC A, SME, IMI et SFC-1 du groupe fonctionnel 2f, (Fig 21 annexe 3) [48]. Ces souches ont une sensibilité diminuée ou sont résistantes aux pénicillines, aux C1G, aux C2G à l'aztréonam et à l'imipénème (CMI de 1 à \geq 32 mg/L). Elles restent sensibles aux C3G et C4G (Tableau 5).

Tableau 5 : Phénotype de résistance à l'imipénème des entérobactéries par production de carbapénémase. La flèche indique les interprétations préconisées et les résultats rarement observés.

Antibiotique	Carbapénémase de		
	Classe A		Classe B
	Chromosomique <i>S. marcescens</i>	Plasmidique <i>E. coli</i>	Plasmidique <i>E. coli</i>
Aminopénicillines	R	R	R
Aminopénicillines + acide clavulanique	R	S/I/R	R
Carboxypénicillines	I/R (S → I)	R (I)	R
Carboxypénicillines + acide clavulanique	I/R (S → I)	S/I/R	R
Uréidopénicillines	I/S → I	R (I)	R/I (S → I)
Uréidopénicillines + tazobactam	S	S/I/R	R/I (S → I)
Céphalosporines de 1^{er} génération	R	R	R
Céphalosporines de 2^e génération	R	R/I	R/I
Céfoxitine	I/R	R/I	R/I
Céphalosporines de 3^e génération	S	R/I	R/I
Aztréonam	S	R/I	S
Céphalosporines de 4^e génération	S	R/I	R/I
Carbapénèmes	I/R (S → I)	I/R (S → I)	I/R (S → I)

Les carbapénémases de classe A de type KPC et GES (groupe fonctionnel 2f) sont plus inquiétantes car codées par des plasmides qui ont permis leur diffusion chez de nombreuses espèces telles que *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacterspp* et *Salmonellaenterica*. Elles peuvent conférer une résistance à l'ensemble des β -lactamines, y compris les céphamycines, les C3G, les C4G et les carbapénèmes (Tableau 5). Bien que parfois réduite, leur sensibilité aux β -lactamines inhibitrices permet en général d'observer une image de synergie entre les disques contenant du clavulanate et de l'imipénème. Pour être observée, la synergie peut nécessiter un rapprochement des disques ou l'utilisation de la technique des disques combinés. Cependant, une enzyme dérivée des BLSE de type GFS, décrite au Japon chez *K. pneumoniae*, possède une résistance aux inhibiteurs. Ceci n'a pas permis d'observer d'effet synergique avec les inhibiteurs. La résistance à l'imipénème s'exprimait à un niveau permettant tout juste la détection (CMI mg/l : imipénème, 8 ; céfoxitine, >128 ; moxalactam, 128 ; cefotaxime, 16 ; céfépime 8 ; cefpirome 128 ; ceftazidime, 1024).

Des carbapénémases plasmidiques de classe B (groupe fonctionnel 3) ont été caractérisées chez les entérobactéries au Japon, (enzyme de type VIM et IMP) et plus rarement en Europe (enzyme de type VIM). Ces enzymes hydrolysent toutes les β -lactamines à l'exception de l'aztréonam (Tableau 5). Les CMI peuvent être basses pour l'imipénème (1 à > 16 mg/l). la résistance est plus constante pour la ceftazidime. Elles résistent aux β -lactamines inhibitrices

mais sont sensibles à l'action inhibitrice de l'EDTA ce qui permet d'observer une image de synergie entre des disques contenant de l'imipénème et de l'EDTA.

L'hyperproduction de céphalosporinase associée à une imperméabilité est la cause la plus fréquente de résistance à l'imipénème en France chez les entérobactéries. Ce phénotype de résistance composite a été observé chez des souches productrices de céphalosporinase chromosomique comme *E. aerogenes*, *E. cloacae* et *C. freundii* ainsi que deux souches de *K. pneumoniae* (Fig 20 annexe 3). Une souche produisait une céphalosporinase plasmidique et la seconde une β -lactamase à spectre étendu.

Il n'a pas été démontré que le méropénème ou l'ertapénème soient plus efficaces que l'imipénème sur les entérobactéries. Une diminution de sensibilité ou une résistance à l'une de ces molécules doit être confirmée par une exploration des mécanismes mis en jeu par la souche et une interprétation des résultats « sensibles » en « intermédiaires » pour l'imipénème. Le méropénème et l'ertapénème.

e-Autres phénotypes de résistance

Des souches de *E. coli*, *K. pneumoniae* et *P. mirabilis* présentent une diminution de sensibilité aux céphamycines, aux C1G, C2G (Fig 22 annexe 3) et parfois aux C3G à moindre degré. Ce phénotype est lié à un déficit en porine qui engendre par ailleurs une diminution de sensibilité ou une résistance aux quinolones, chloramphénicol, tétracyclines et triméthoprime. Chez *E. aerogenes*, l'altération des porines peut également entraîner une résistance aux C3G, aux C4G et une diminution de sensibilité à l'imipénème [47].

β -lactamines à étudier

Le choix des molécules à étudier dépend de la situation épidémiologique, des habitudes thérapeutiques et de la nature du prélèvement. Deux compositions types sont proposées par le CA-SFM pour répondre aux besoins hospitaliers (H) et à la pratique de ville :

- Antibiogramme standard : amoxicilline ou ampicilline, amoxicilline-clavulanate ou ampicilline-sulbactam, mécillinam, céfalotine, céfixime, céfotaxime (H) ou ceftriaxone (H).
- Antibiogramme complémentaire : amoxicilline ou ampicilline, amoxicilline-clavulanate ou ampicilline-sulbactam, ticarcilline (H), ticarcilline-clavulanate (H),

pipéracilline (H) ou mezlocilline (H), pipéracilline-tazobactam (H), mécillinam, céfalotine, céfuroxime-proxetil, céfoxitine (H) et/ou céfotétan. (Latamoxef, non commercialisé), ceftazidime (H), céfotaxime (H) ou ceftriaxone ou ceftizoxime (H), céfépime (H) ou cefpirome (H), aztréonam (H), imipénème (H).

5.2. Les bactéries non fermentaires

5.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à gram négatif, pathogène majeur responsable essentiellement d'infections acquises à l'hôpital et en général de traitement difficile, il est agent de pneumonie, de bactériémies et d'infections urinaires. Il possède la particularité d'associer un niveau élevé de résistance naturelle aux antibiotiques, en particulier aux β -lactamines, et différents mécanismes de résistance aux antibiotiques essentiellement enzymatiques qui s'additionnent parfois au sein de la même souche.

Un nombre croissant de β -lactamases acquises ont été décrites chez *P. aeruginosa* ces dernières années. Les premières β -lactamases, avaient un spectre relativement étroit alors que les plus récentes ont un spectre d'hydrolyse étendu aux céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} génération et/ou carbapénèmes. Ces différentes β -lactamases appartiennent aux classes A, B, C, D, de la classification d'Amblar basé sur les séquences en acides aminés.

5.2.1.1. β -lactamases à spectre étendu

A. β -lactamase de la classe A

La première β -lactamase de la classe A PER-1 (*Pseudomonas* Extended Résistance) fut identifiée à partir d'un isolat d'un patient turc hospitalisé à l'hôpital Raymond Poincaré de Garches en 1991 [28] (fig 23E annexe 3). Cette β -lactamase est désormais très répandue en Turquie et en Asie (Corée du sud notamment) et une β -lactamase apparentée (PER-2) a été décrite en Amérique du Sud. Comme chez les entérobactéries, les dérivés de TEM et SHV ont été décrits : TEM-4, TEM-21, TEM-42, SHV-2a, SHV-5 et SHV-12. Ces variants ont été identifiés de manière sporadique chez *P. aeruginosa*. [49]

Parmi les autres β -lactamases de classe A on connaît VEB-1 (et VEB-1a/VEB1b) (Vietnamese Extended specturum β -lactamases) (Fig 23F annexe 3) ; GES-1 identifiés à partir d'une souche de Guyane française (Guyana Extended-Spectrum β -lactamases) et ses dérivés (IBC-2, GES-9, etc.) ont été identifiés également dans des souches d'Europe et d'Afrique. La

toute dernière β -lactamases de spectre étendu chez *P.aeruginosa* (BEL-1) a été décrite à partir d'une souche d'origine belge. [50]

Toutes ces β -lactamases, classiquement appelées β -lactamases à spectre étendu hydrolysent fortement les uréidopénicillines, les céphalosporines de 3^e et 4^e génération, +/- l'aztreonam et leur activité est inhibée *in vitro* par l'acide clavulanique. Il s'agit d'enzymes génétiquement peu reliées puisque leur pourcentage d'identité varie de 20 à 70 %, ce qui souligne la variété des β -lactamases de spectre étendu acquises par *P. aeruginosa* vraisemblablement après transfert à partir de réservoirs dans l'environnement. Le support des gènes de β -lactamases peut être chromosomique ou plasmidique. Les gènes de β -lactamases de type de GES, VEB et BEL sont situés au sein d'intégrons de classe 1. Certains de ces gènes sont associés à des transposons. C'est le cas du gène de PER-1 qui est associé à un transposon composite. Ces situations favorisent la mobilité et l'expression des gènes de β -lactamases à spectre étendu en association avec des gènes de résistance à d'autres familles d'antibiotiques, ce qui contribue à la multirésistance des souches qui produisent ces enzymes.

Récemment, un dérivé de GES-1, GES-2, a été identifié à partir de souches sud-africains. Cette β -lactamase a une activité étendue aux carbapénèmes mais modeste. Cependant, l'activité de cette enzyme associée à certain niveau d'imperméabilité peut être à l'origine de souches résistantes aux carbapénèmes et aux céphalosporines à large spectre.

Quelques *P.aeruginosa* ont été décrits produisant les enzymes de type de type PER-1, GES, VEB-1, TEM ou SHV, c'est sont particulièrement fréquentes en Turquie, Corée du Sud et en Italie. [49]

B. β - lactamase de la classe D : oxacillinase de spectre étendu

OXA-18 est la seule oxacillinase de *P.aeruginosa* dont l'activité est bien inhibée par l'acide clavulanique et dont le phénotype de résistance induit est en tous points similaire à celui d'une de β -lactamases à spectre étendu de classe A [51]. La plupart des oxacillinases à spectre étendu chez *P.aeruginosa* sont des dérivés par substitutions ponctuelles des β -lactamases OXA-10 (OXA-11, OXA-14, OXA-16, OXA17, OXA-19, OXA-28) et OXA-2 (OXA-15, OXA-32). [50,52] (Fig 23G annexe 3).

Ces variant hydrolysent les céphalosporines de 3^eme génération et/ou l'aztréonam à des degrés variables et leur activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique. L'hydrolyse du céfépime/cefpirome est souvent marquée. [53]

Le support génétique de ces enzymes est plasmidique ou chromosomique et la plupart des gènes font partie d'intégrons de classe 1. Si les oxacillinases de spectre étroit de

P. aeruginosa (OXA-1, OXA-2, etc.) peuvent être détectés chez les entérobactéries, les oxacillinases à large spectre n'ont été identifiées pour l'instant que chez *P.aeruginosa*.

Seules quelques souches (essentiellement provenant de Turquie et de France) ont été décrites. [50]

C. Carbapénémases de classe B (MBL)

Bien que les β -lactamases de classe A, C et D soient des effecteurs importants de la résistance aux β -lactamines chez *P. aeruginosa*. Les enzymes de classe B (carbapénémases) ont une activité catalytique beaucoup plus forte et hydrolysent toutes les β -lactamines sauf l'aztréonam. [54,55] (Fig. 23H annexe 3). la première enzyme de ce type (IMP-1, IMiPenemase) fut décrite au Japon en 1988. Les carbapénémases acquises constituent actuellement 4 groupes : IMP, VIM (VeronaIMipenamase), SPM (Sao Paulo Metallo- β -lactamase) ou GIM (GermanIMipenamase). [55]

Dix-huit variants du groupe IMP et douze du groupe VIM sont connus dont la plupart ont été identifiés chez *P. aeruginosa*, ainsi qu'un représentant SPM-1 et un représentant GIM-1. Ces quatre groupes d'enzymes sont structurellement peu reliés puisqu'ils n'ont que 20 à 30 % d'identité en acides aminés. Ils sont également très différents des métallos- β -lactamases naturelles exprimées dans des espèces telles que *Stenotrophomonas maltophilia* et *Chryseobacterium* spp. L'activité de ces enzymes est liée à la présence d'un à deux ions zinc dans leur site active et est donc inhibée par addition de chélateur d'ions bivalents (EDTA). Les gènes de structure de ces enzymes sont plasmidiques ou chromosomiques, situés dans des intégrons. L'identification relativement récente et de prévalence croissante de ces β -lactamases, notamment en Europe, fait craindre leur diffusion assez rapide. [54,55]

Les MBL les plus fréquemment isolées dans le monde sont les types IMP et VIM (en particulier VIM-2). Ces β -lactamases sont maintenant détectées sur tous les continents avec une prévalence forte en Asie et Amérique du Sud. Cependant, de nombreuses épidémies nosocomiales avec ce type de souches ont été décrites en particulier en Europe du Sud (Italie, Grèce, France, Portugal). [55]

On devrait assister dans un avenir proche à un isolement croissant de métallo-enzymes bien que, compte-tenu de la nature des épidémies nosocomiales à *P.aeruginosa* qui sont habituellement plus faciles à contrôler que celles à d'autres germes nosocomiaux (*Acinetobacter baumannii*, *Entrococcuspp*), on ne connaît pas bien le potentiel épidémique de ces souches.

Tableau 6 : Phénotypes de résistance aux β -lactamines et β -lactamases chez *P. aeruginosa*.

β -lactamine	Céphalo- sporinasehyper produite	Pénicillinase TEM/PSE (CARB)	Oxacillinase de spectre étroit	β -lactamase à spectre étendu classe A OXA	β -lactamase à spectre étendu de type OXA	Carbapénémase (IMP, VIM, SPM, GIM)
Ticarcilline	R ^a	R	R	R	R	R
Ticarcilline +ac. Clavulanique	R	I/S	I/R	S/I ^b	I/R	R
Pipéracilline	I/R	I/R	I/R	I/R	I/R	I/S ^b
Pipéracilline + tazobactam	I/R	I/S	I/R	S ^b /I	I/R	I/S ^b
Cefsulodine	I/R	I/R	I/R	R	I/R	R
Ceftazidime	I/R	S	S	R	I/R ^b	R
Cefpirome	I/R	S	I/R ^c	I/R	I/R	R
Céfépime	I/R	S	I/R	I/R	I/R	I/R
Aztréonam	I/R	S	S	R	S/I	S
Imipénème	S	S	S	S	S	R
Méropénème	S	S	S	S	S	R

^a I, intermédiaire ; R, résistant ; S, sensible.

^b Phénotype observé in vitro et non réinterprété.

^c Certaines oxacillinases de spectre étroit entraînent une résistance aux céphalosporines de 4^e génération.

5.2.2 *Acinetobacter* :

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont restées très longtemps méconnues en raison de leur faible pouvoir pathogène. Ces bactéries ont développé, à partir des années 70 – 80, de multiples mécanisme de résistance vis-à-vis des antibiotique et ont pris une place importante parmi les bactéries multirésistantes responsables d'infection nosocomiales et plus particulièrement de bouffées épidémique hospitalières. *Acinetobacter* est responsable en moyenne de 9 à 10% des infections nosocomiales en réanimation. Les taux de résistance aux β - lactamines dans la littérature internationale varient entre 5 et 50% pour les carbapénèmes et entre 50 et 100% pour toutes les autres β - lactamines.

A-Phénotype sensible

Les souches de *Acinetobacter* isolées avant les années 70 étaient sensibles à toutes les β -lactamines à l'exception de la pénicilline G; ce phénotype sauvage est encore fréquemment observé chez les espèces « non *baumannii* ».

La souche dite « sensible » aux antibiotiques la plus fréquemment observée actuellement est productrice à bas niveau d'une céphalosporinase chromosomique non inductible. Cette enzyme inactive les céphalosporines de 1^{re} et 2^{eme} génération ainsi que l'amoxicilline et l'association amoxicilline + acide clavulanique. Le moxalactam et l'aztréonam ont une activité diminuée (CMI de 8 à 32 mg/L) et le mécilinam est inactif. Les diamètres et CMI peuvent varier sensiblement en fonction du type de céphalosporinase impliquée. Ce profil correspond au phénotype 1 (Fig 24A ; annexe 3) et existe chez toutes les espèces « *baumannii* » et « non *baumannii* ». En ce qui concerne les autres antibiotiques, *Acinetobacter* est naturellement résistant à bas niveau au triméthoprim (CMI de 16 à 32 mg/L) et la fosfomycine est inactive (Fig. 24B ; annexe 3). Le Tableau 1 donne les diamètres d'inhibitions moyennes et les CMI moyennes observés pour cette population « sensible » [31].

B-Phénotype de résistance acquise

La résistance acquise aux β - lactamines peut être également due à la production de pénicillinases plasmidique. Trois types de pénicillinases dites à large spectre ont été décrits chez *Acinetobacter* : TEM-1, TEM-2, et CARB-5. En 1997, une OXA-21 dont le gène fait partie d'un intégron a été décrite pour la première fois chez *Acinetobacter*. En 1985, une souche productrice d'une β - lactamase à spectre étendu (BLSE) avait été isolée chez un patient hospitalisé dans un hôpital français. Cette souche s'est révélée instable et la résistance n'a pu être transférée. Quelques années plus tard, deux épidémies à *A. baumannii* producteur de BLSE ont été décrites : la première épidémie a été décrite en 1997 en Turquie avec une souche produisant une enzyme PER-1. En 2003, une souche produisant une enzyme VEB-1 a été à l'origine d'une importante épidémie dans le nord de la France, touchant 54 établissements dans 15 départements avec 34 décès (11% des patients). [56]. Plus récemment, un enzyme CTX-2 a été décrite au Japon chez une souche clinique de *A. baumannii* [57].

La résistance enzymatique (BLSE)

Les phénotypes de résistance tel qu'ils ont été définis pour les β - lactamines sont aujourd'hui au nombre de 6, le phénotype (BLSE) est le phénotype 6, le plus récent. Il regroupe les souches exprimant une β - lactamase à spectre étendu. La détection de cette β - lactamase est réalisée par mise en évidence d'une synergie entre l'acide clavulanique et les C3G.

Tableau 7 : phénotype et mécanisme de résistance aux β -lactamines.

Phénotype et mécanisme de résistance	Modification de sensibilité	Effet des inhibiteurs	
		Activité inhibitrice	Activité intrinsèque
Phénotype 1 Céphalosporine bas niveau	Aminopénicilline CIG+C2G ^a	Tazobactam et sulbactam	Sulbactam actif
Phénotype 2 Pénicillinase plasmidique (TEM-1, -2, CARB-5, OXA21) ^b + céphalosporine bas niveau	Aminopénicilline Ticarcilline Pépéracilline Sulbactam CIG+C2G	Clavulanate, Tazobactam Sulbactame ++ (TEM –CARB) +/- (OXA)	
Phénotype 3 Céphalosporine chromosomique Haut niveau (ACE 1-4) ^b	CIG+C2G+C3G Aménopénicillines Ureidopénicillines Ticarcilline (partiel)	Tazobactam Sulbactam Et cloxacilline	Sulbactam Actif
Phénotype 4 Céphalosporine chromosomique Haut niveau + Pénicillinase plasmidique ^b	Aminopénicilline Ticarcilline Pipéracilline Sulbactam CIG+C2G+C3G	(+) Clavulanate Tazobactal	++
Phénotype 5 OXA 23-27, 37, 40, 51, 58 IMP-2 IMP-4, IMP-5, VIM-2	Imipénème (Autre β -lactamines = activité variable)	EDTA + sur IMP/VIM Clavulanate +/- sur OXA	
Phénotype 6 B-lactamase à spectre étendu (PER-1 – VEB-1)	Toutes les β -lactamines sauf l'imipénème	Clavulanate Tazobactam Sulbactam	++

Chapitre 3

Matériel et Méthodes

1. Lieu et type d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive menée au laboratoire de Microbiologie du CHU de la wilaya de Constantine, à propos de l'année 2017 pendant un mois.

Cet hôpital regroupe en 6 groupes de sévices :

➤ **Les services de médecine :**

Médecine interne, médecine nucléaire, Maladies infectieuse,

➤ **Les services de réanimation :**

Réanimation médicale, réanimation des brûlés, anesthésie réanimation gynéco-obstétrique,

➤ **Les services de chirurgie :**

Chirurgie général A, chirurgie général B, chirurgie thoracique, chirurgie plastique, orthopédie traumatologique A, orthopédie traumatologique B,

➤ **Les services d'urgence :**

Urgence médicale, urgences chirurgicales,

➤ **Les services de pédiatrie :**

Pédiatrie A, pédiatrie B,

➤ **Les autres services :**

Neurologie, Hématologie, Cardiologie, Pneumologie, Rhumatologie, Oncologie médicale, Radiothérapie médicale, néonatalogie, dermatologie, endocrinologie, gastro-entérologie, unité de pénitencier, ophtalmologie, ORL, maxillo-facial, ainsi qu'une unité de prise en charge des grands brûlés et un service d'hémodialyse ...ect.

2. Souches bactériennes

L'étude porte sur l'ensemble des souches, bacille à gram négatif productrices de BLSE isolées de tous les prélèvements réceptionnés aux laboratoires et pratiqués.

3. Identification bactérienne

Tous les prélèvements ont été étudiés de manière classique :

- Une fiche de renseignement accompagner les prélèvements
- Reporter les renseignements sur le registre

- Les différentes étapes de la bactériologie classiques comprennent :
 - Examen microscopique
 - Isolement sur gélose
 - Identification biochimique
 - Antibiogramme
- Interprétation par rapport à l'antibiogramme pour avoir s'il existe des bactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu :
 - Utilisation de l'automate pour interpréter
 - Interprétation des résultats de l'antibiogramme

La lecture et l'interprétation de l'antibiogramme se font selon les normes du comité de l'antibiogramme de National Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI).

Au niveau de laboratoire de microbiologie ils ont utilisé des différentes familles d'antibiotiques pour déterminer les bactéries dans les différents prélèvements réceptionnés ; Parmi les bêta-lactamines retenues : AMP/AMX: Ampicilline/Amoxicilline, AMC: Amoxicilline+acide clavulanique, CZO: Cefazoline, FOX : Cefoxitine, CTX/CRO: Cefotaxime/ceftriaxone, IMP :Imipenem, ERT: Ertapenem, ATM: Aztréonam, CAZ: Céfotaxidime, TIC: Ticarcilline, PIP: Piperacilline, TCC : Ticarcilline + Acide clavulanique. Outre les bêta-lactamines, sont testés CHL :Chloramphénicol, NIT: Nitrofuranes, CIP :Ciprofloxacine, SXT: Cotrimoxazole, des polymyxines : COL: Colistine, des quinolones : NAL: Acide nalidixique, fluoroquinolones : LVX : Lévofloxacine ainsi que 4 aminosides : GEN: Gentamicine, AMK: Amikacine, TOB:Tobramicine NET : Netilmicine.

4. Collecte des données

Elle a consisté à la collecte des résultats de tous les antibiogrammes réalisés durant l'année 2017. Ces résultats comportaient, le numéro d'identification, le nom du patient, la date d'isolement, le germe identifié, la nature du prélèvement, ainsi que les antibiotiques testés avec leur profil de sensibilité. La collecte des données est effectuée selon un questionnaire (annexe 1)

5. Traitement des données et analyse statistique

Dans l'établissement des pourcentages de résistance des différentes espèces bactériennes, les résultats « intermédiaire » ont été inclus dans la catégorie « résistant ». L'analyse descriptive des données a été faite à l'aide de logiciel Microsoft Excel 2013.

Chapitre 4
Résultats et
Interprétation

Dans ce chapitre nous avons présenté les différentes interprétations des résultats réalisés pendant l'année 2017 au niveau du laboratoire de Microbiologie – CHU de Constantine. Ces résultats comportaient, le germe identifié, la nature du prélèvement réalisé dans les services : médecine réanimation chirurgie urgence pédiatrie et d'autres services, ainsi que les antibiotiques testés avec leur profil de sensibilité (R, I). Ces données ont été complétées avec la provenance du prélèvement grâce aux registres du laboratoire.

1. Résistance aux antibiotiques par germe et par molécule d'antibiotique

Les antibiotiques qu'on teste pour les bactéries à gram négatif :

- Les bêta-lactamines : AMP/AMX : Ampicilline/Amoxicilline, AMC : Amoxicilline + acide clavulanique, CZO : Cefazoline, FOX : Cefoxitine, CTX/CRO : Cefotaxime/ceftriaxone, IMP : Imipeneme, ERT : Ertapenem, ATM : Aztréonam, CAZ : Céftazidime, TIC : Ticarcilline, PIP : Piperacilline, TCC : Ticarcilline + Acide clavulanique.
- Phénicoles : CHL : Chloramphénicol,
- Nitrofurantoines : NIT : Nitrofuranes,
- Polypeptides : COL : Colistine.
- Les aminosides : GEN : Gentamicine, AMK : Amikacine, TOB : Tobramicine, NET : Netilmicine.
- Les quinolones : NAL : Acide nalidixique, CIP : Ciprofloxacine.
- fluoroquinolones : LVX : Lévofloxacine.
- Autre : SXT : Cotrimoxazole, FOS : Fosfomycine,

1.1. Entérobactéries

a) *Escherichia coli*

Tableau 8 : Nombre Total des souches d'*Escherichia coli* testées pour chaque molécule.

Antibiotique	AMP / AMX	AMC	CZO	FOX	CTX / CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AMK	CHL	NIT	NAL	CIP	COL (CMI)	SXT	FOS (200)
Total	553	546	553	553	553	193	120	553	192	553	120	0	247	542	552	253	549	439

D'après les résultats, *Escherichia coli* est hautement résistante aux Ampicilline/Amoxicilline par rapport aux autres antibiotiques avec un pourcentage de 78,66% (Figure 25).

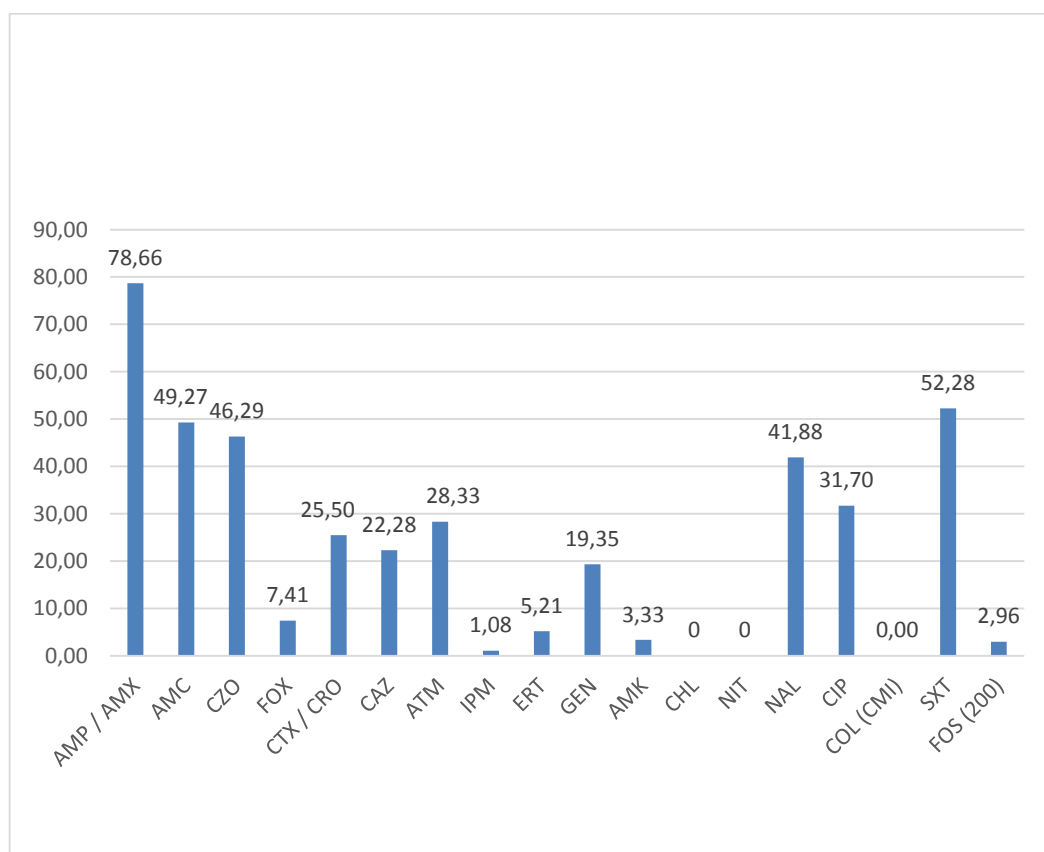


Figure 25 : Pourcentage des *Escherichia coli* résistantes (R + I) aux antibiotiques

b) *Klebsiella pneumoniae*

Tableau 9 : Nombre Total des souches des *Klebsiella pneumoniae* testées pour chaque molécule.

Antibiotique	AMC	CZO	FOX	CTX/CRO	CAZ	ATM	IMP	ERT	GEN	AMK	CHL	NIT	NAL	CIP	COL(CMI)	SXT	FOS
Total	234	234	234	234	88	55	234	190	234	55	0	77	234	234	145	234	167

La figure 26 montre que *Klebsiella pneumoniae* est hautement résistante aux CZO : Cefazoline par rapport aux autres antibiotiques avec un pourcentage de 70,09 %.

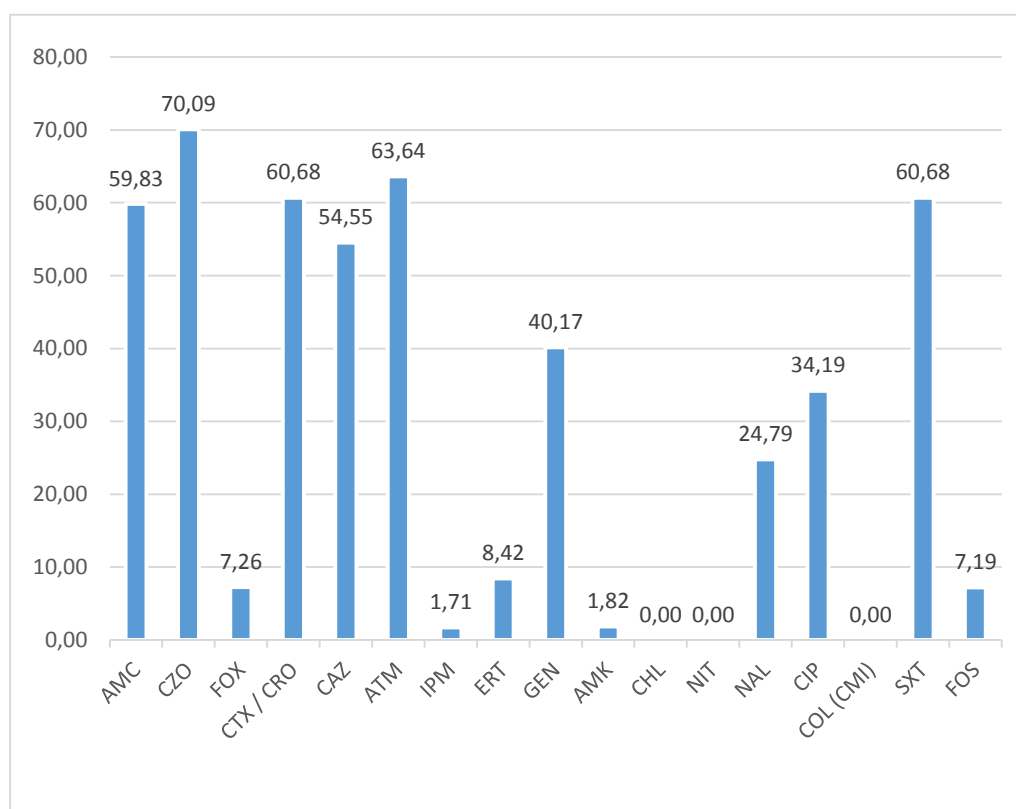


Figure 26 : pourcentage des *Klebsiella pneumoniae* résistantes (R + I) aux antibiotiques.

c) *Enterobacter cloacae*

Tableau 10 : Nombre totale des souches d'*Enterobacter cloacae* testés pour chaque molécule.

Antibiotique	CTX/CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AMK	CHL	NIT	NAL	CIP	COL(CMI)	SXT	FOS
Total	130	54	54	130	113	130	54	0	84	77	130	77	130	115

Les résultats de la figure dévoilent que *Enterobacter cloacae* est hautement résistant aux CAZ (Céftazidime) par rapport aux autres antibiotiques avec un pourcentage de 55,56 % (Figure 27).

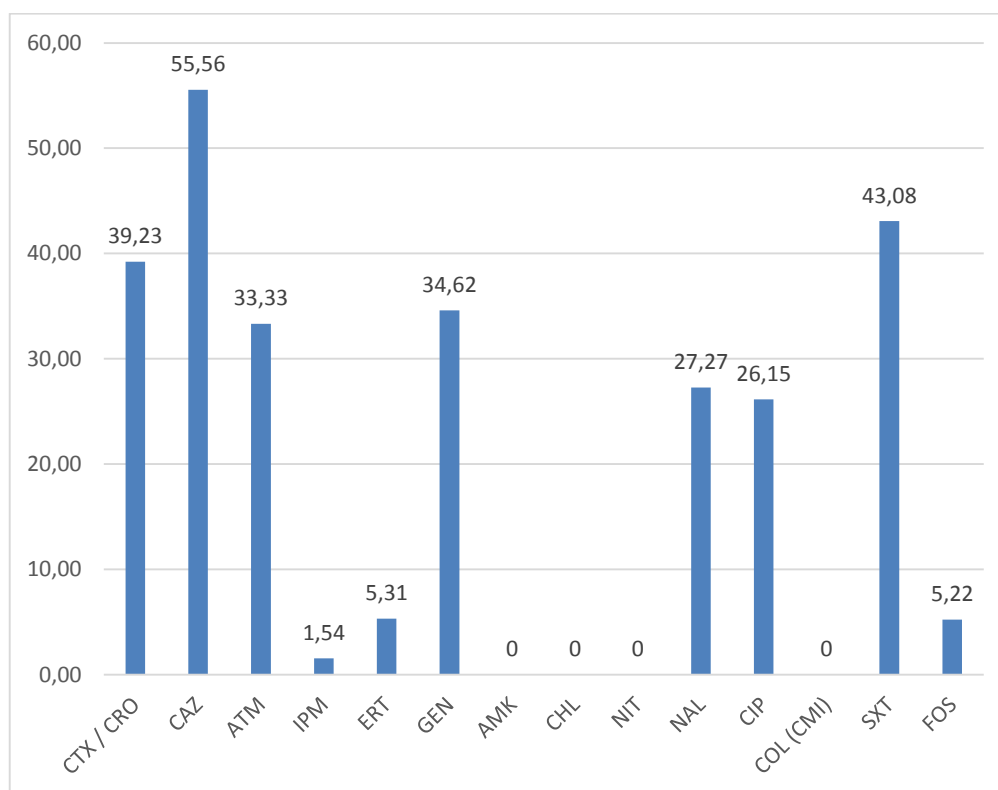


Figure 27 : pourcentage des *Enterobacter cloacae* résistants (R + I) aux antibiotiques.

d) *Serratia marcescens*

Tableau 11 : Nombre totale des souches des *Serratia marcescens* testées pour chaque molécule.

Antibiotique	CZO	FOX	CTX/CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AMK	CHL	NIT	NAL	CIP	SXT	FOS
Total	25	25	25	11	11	25	11	25	11	0	6	13	23	24	20

Les résultats représentent que toutes les *Serratia marcescens* résistent aux CZO : Cefazoline par rapport aux autres antibiotiques 100 % (Figure 28).

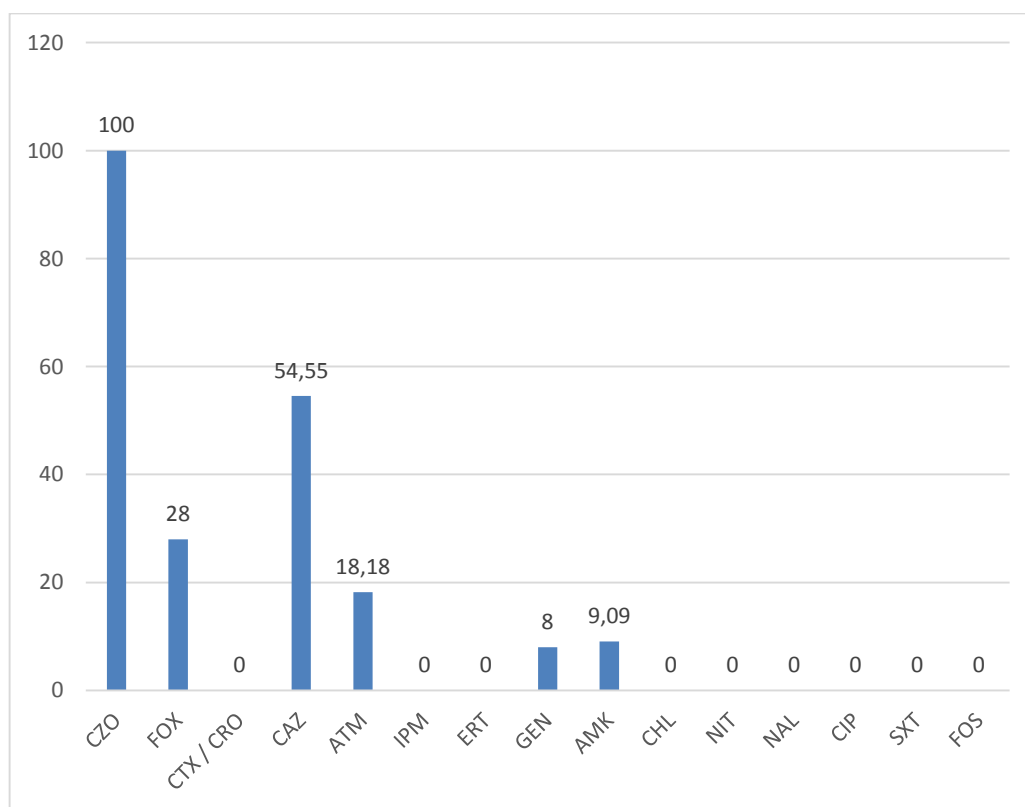


Figure 28 : pourcentage des *Serratia marcescens* résistantes (R + I) aux antibiotiques

e) *Proteus mirabilis*

Tableau 12 : Nombre totale des souches des *Proteus mirabilis* testés pour chaque molécule.

Antibiotique	AMP/AMX	AMC	CZO	FOX	CTX/CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AMK	CHL	NAL	CIP	SXT
Total	85	85	85	85	85	18	18	85	76	76	9	0	78	85	85

Le pourcentage le plus élevé est 69.41 % qui indique que les *Proteus mirabilis* est hautement résistes à l'AMP/AMX (Ampicilline/Amoxicilline) et au SXT (Cotrimoxazole) par rapport aux autres antibiotiques (Figure 29).

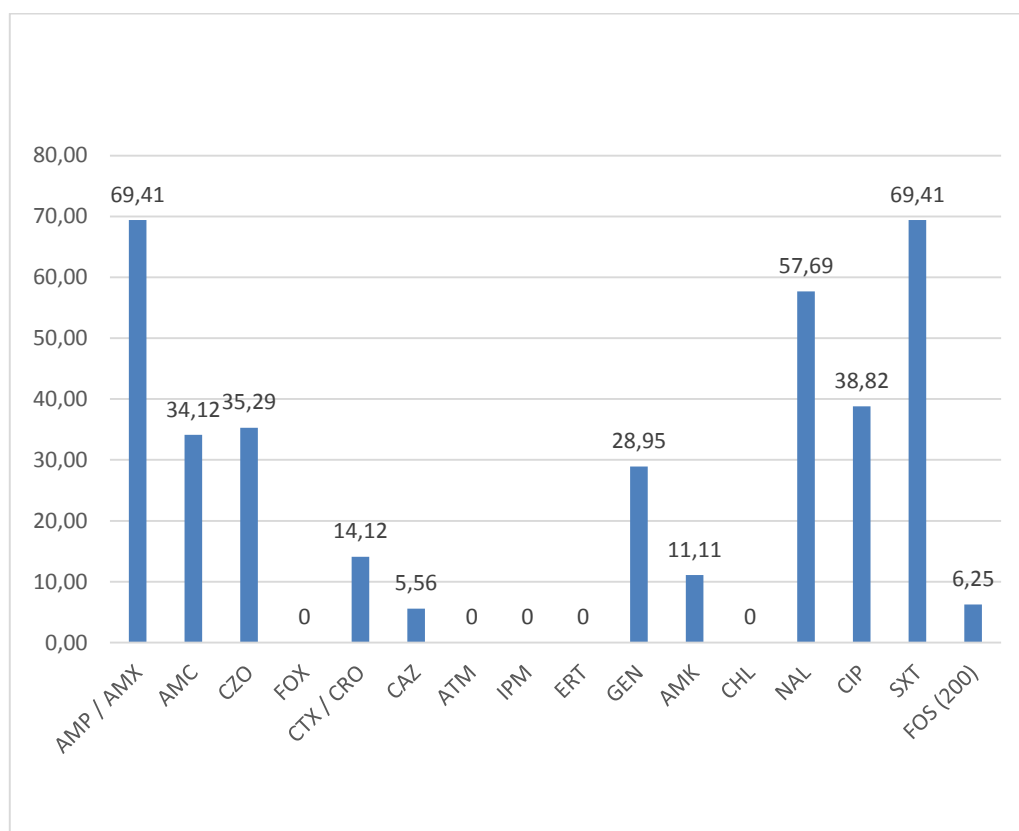


Figure 29 : pourcentage des *Proteus mirabilis* résistants (R + I) aux antibiotiques.

f) *Salmonella* spp. Isolées des coprocultures

Tableau 13 : Nombre totale des souches des *Salmonella* spp. Isolées des coprocultures testés pour chaque molécule.

Antibiotique	AMP/AMX	AMC	CZO	FOX	CTX/CRO	IPM	GEN	AMK	CHL	NIT	NAL	CIP	SXT	FOS
Total	14	14	14	14	13	14	14	3	2	10	12	14	14	12

D'après la figure 30, toutes les *salmonella* spp. Digestif (Isolées des coprocultures) montrent une résistance aux AMP/AMX (Ampicilline/Amoxicilline), CZO(Cefazoline) et NAL (Acide nalidixique) par apport aux d'autres antibiotiques.

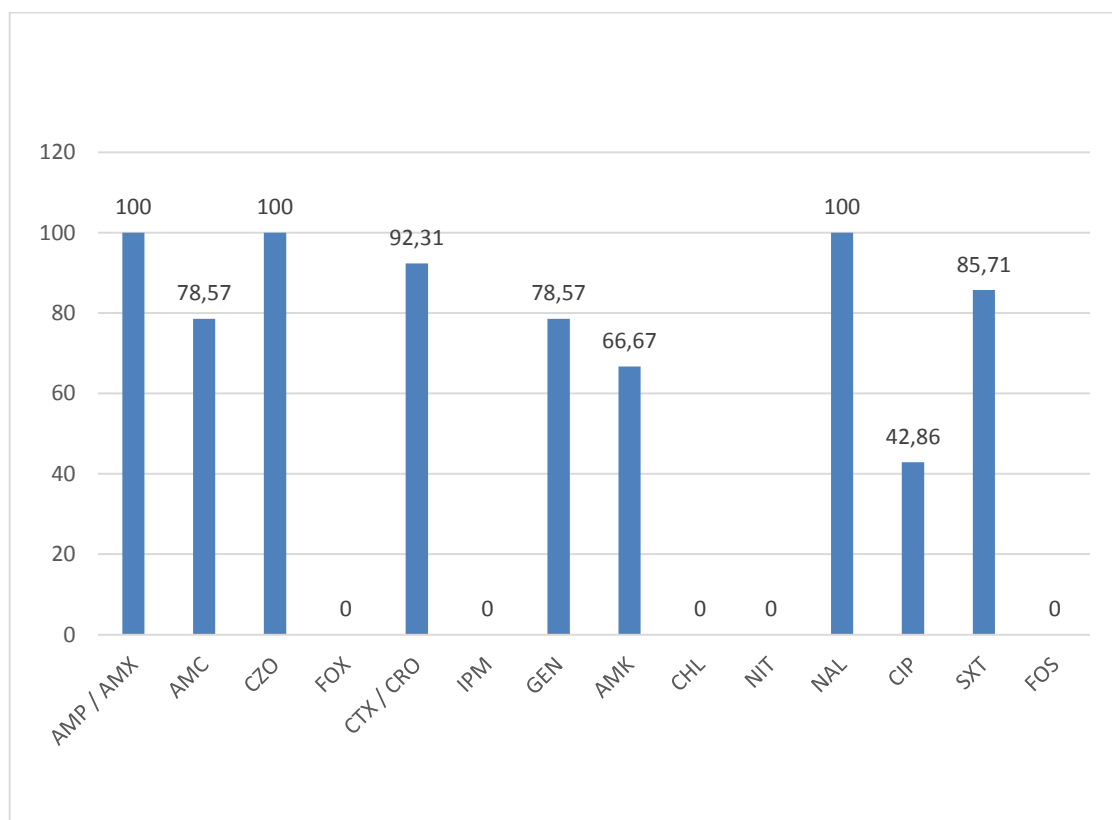


Figure 30 : pourcentage des *Salmonella* spp. Digestif (Isolées des coprocultures) résistantes (R + I) aux antibiotiques.

g) *Salmonella* spp. Extra digestives

Tableau 14 : Nombre totale des souches des *Salmonella* spp. Extra digestives tétés pour chaque molécule.

Antibiotique	AMP/AMX	AMC	CZO	FOX	CTX/CRO	IPM	GEN	AMK	CHL	NIT	NAL	CIP	SXT	FOS
Tota	21	20	21	20	21	22	22	4	0	9	21	22	21	147

D'après les résultats, *Salmonella* spp. Extra digestives sont hautement résistantes aux NAL (Acide nalidixique) avec un pourcentage de 90.48 %, suivi par AMP/AMX (Ampicilline/Amoxicilline) avec un pourcentage de 76.19 % (Figure 31).

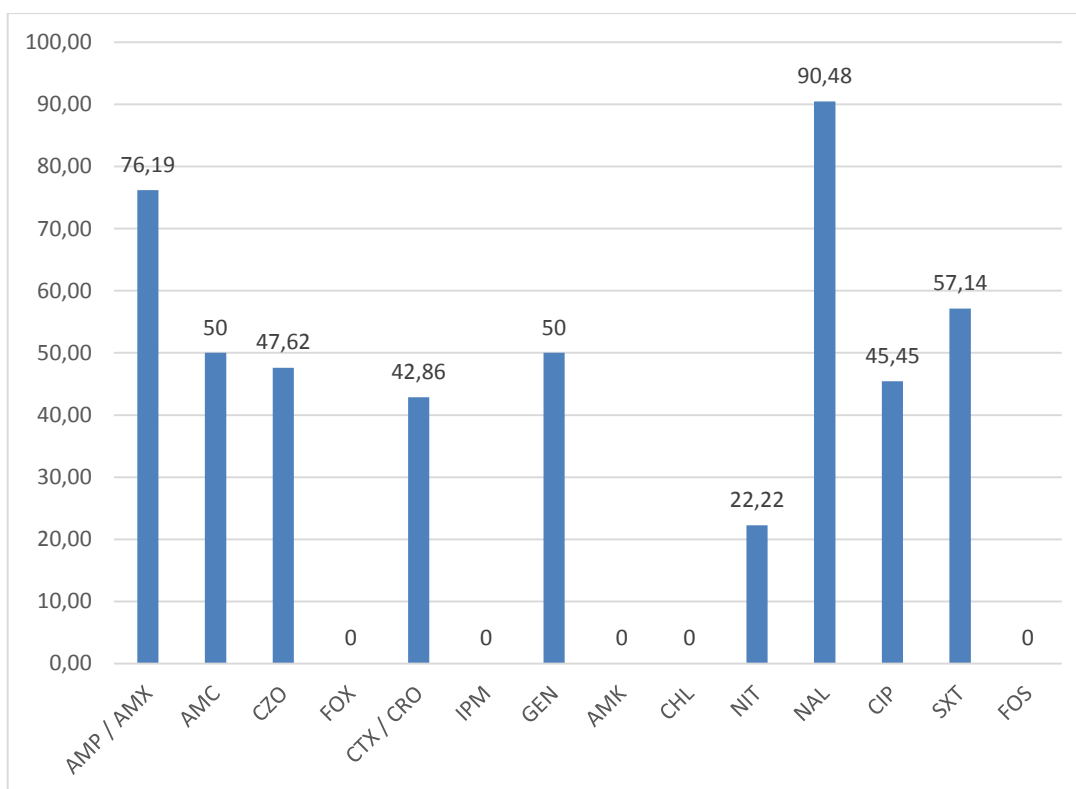


Figure 31 : pourcentage des *Salmonella* spp. Extra digestives résistantes (R + I) aux antibiotiques.

1.2. Bactéries non fermentaires (BNF)

Les résultats sont présentés dans les figures suivantes (figures 32 et 33).

a) *Pseudomonas aeruginosa*

Tableau 15 : Nombre totale des souches des *Pseudomonas aeruginosa* testés pour chaque molécule.

Antibiotique	TIC	TCC	PIP	CAZ	ATM	IPM	GEN	TOB	NET	AMK	CIP	LVX	FOS (CMI)	COL
Total	171	0	146	178	156	187	187	56	0	24	179	21	161	167

Les résultats montrent que les *Pseudomonas aeruginosa* résistent de hautement aux AMK (Amikacine) avec un pourcentage 54.17 % suivi par LVX (Lévofoxacine) avec 38.10 % suivie de près par TOB (Tobramicine) avec 37.5 % ainsi TIC (Ticarcline) avec 36.84 % par rapport aux d'autres antibiotiques (Figure 32).

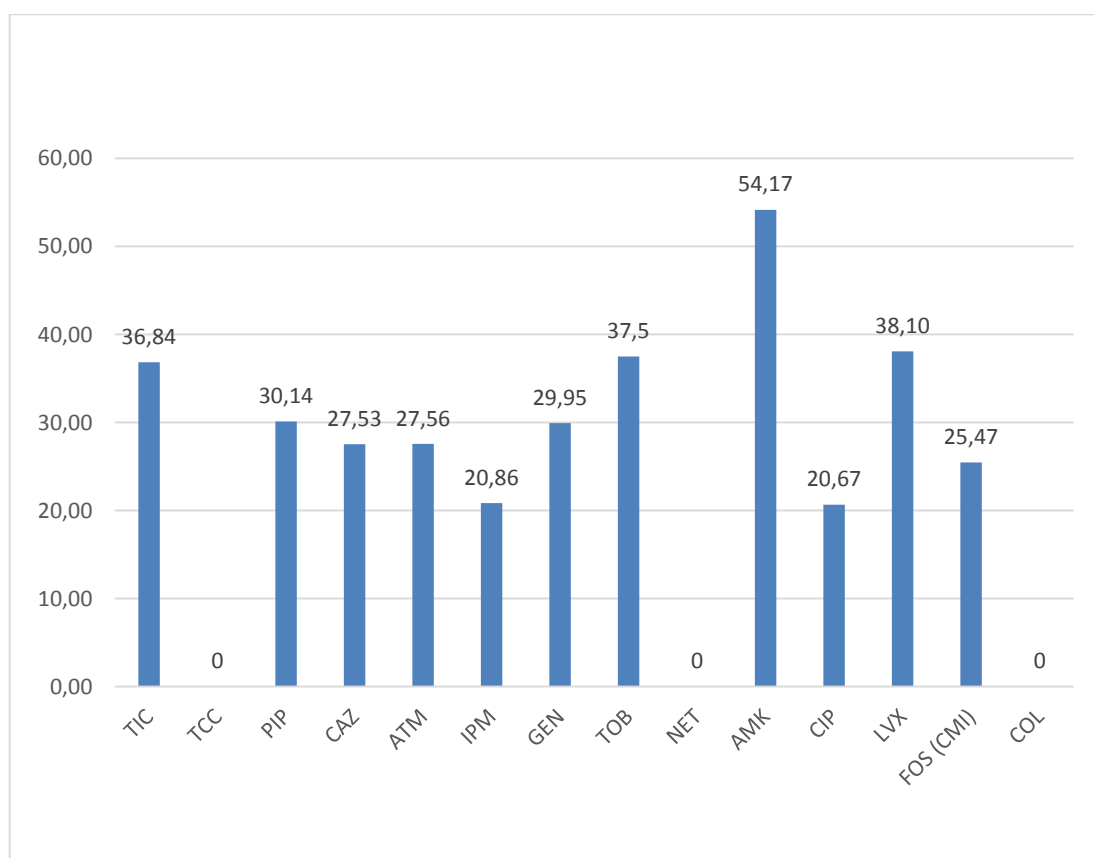


Figure 32 : Pourcentage des *Pseudomonas aeruginosa* résistants (R + I) aux antibiotiques.

b) *Acinetobacter* spp.

Tableau 16 : Nombre totale des souches des *Acinetobacter* spp. Testés pour chaque molécule.

Antibiotique	TIC	TCC	PIP	CAZ	IPM	GEN	TOB	NET(CMI)	AMK	CIP	LVX	DOX	SXT	COL(CMI)
Tota	147	0	132	174	157	184	77	0	28	179	17	0	57	132

D'après la figure 33, les *Acinetobacter* spp. Sont hautement résistants aux

PIP : Piperacilline par rapport aux autres antibiotiques avec un pourcentage de 87,12 %.

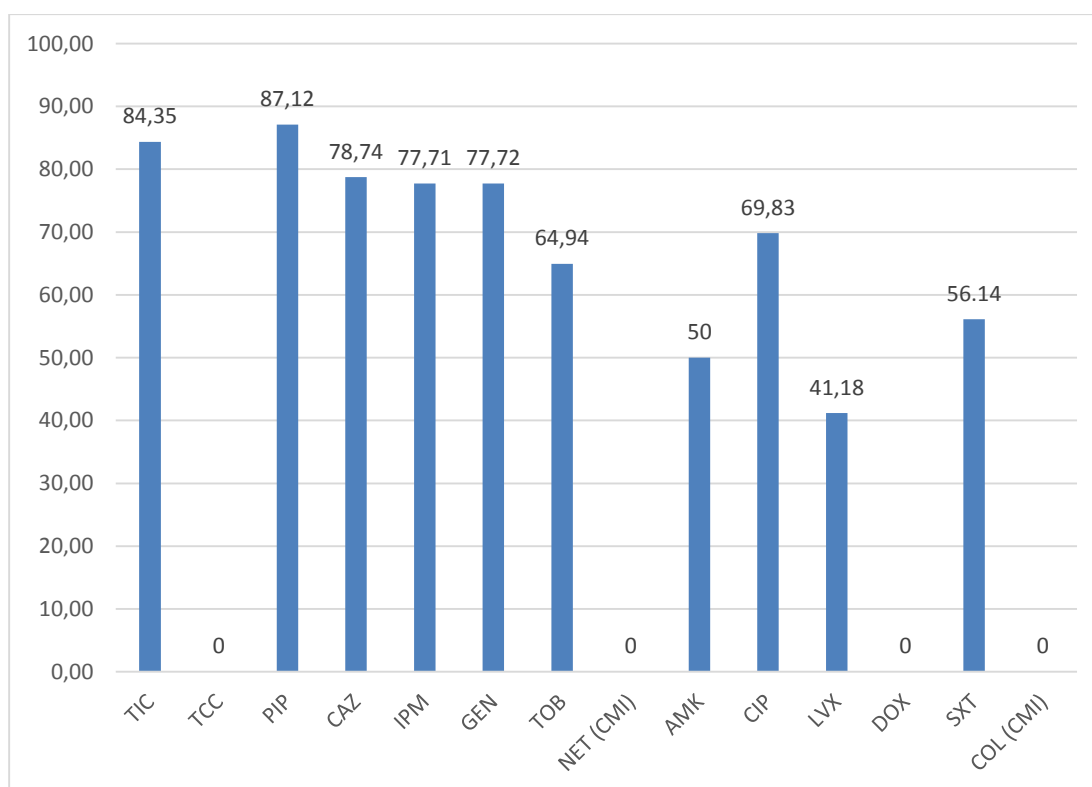


Figure 33 : Pourcentage des *Acinetobacter* spp. Résistants (R + I) aux antibiotiques.

2. Résistance aux antibiotiques par type de prélèvement

a) *Escherichia coli* isolées d'urines

Tableau 17 : Nombre totale des souches d'*Escherichia coli* isolées d'urines testés pour chaque molécule.

Antibiotique	AMP/AMX	AMC	CZO	FOX	CTX/CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AMK	CHL	NIT	NAL	CIP	COL(CMI)	SXT	FOS(200)
Total	329	329	329	329	329	155	54	329	155	329	97	0	190	174	329	164	329	135

D'après les résultats trouvés, *Escherichia coli* isolée d'urines est hautement résistante aux Ampicilline/Amoxicilline par rapport aux autres antibiotiques avec un pourcentage de 74,47% (figure 34).

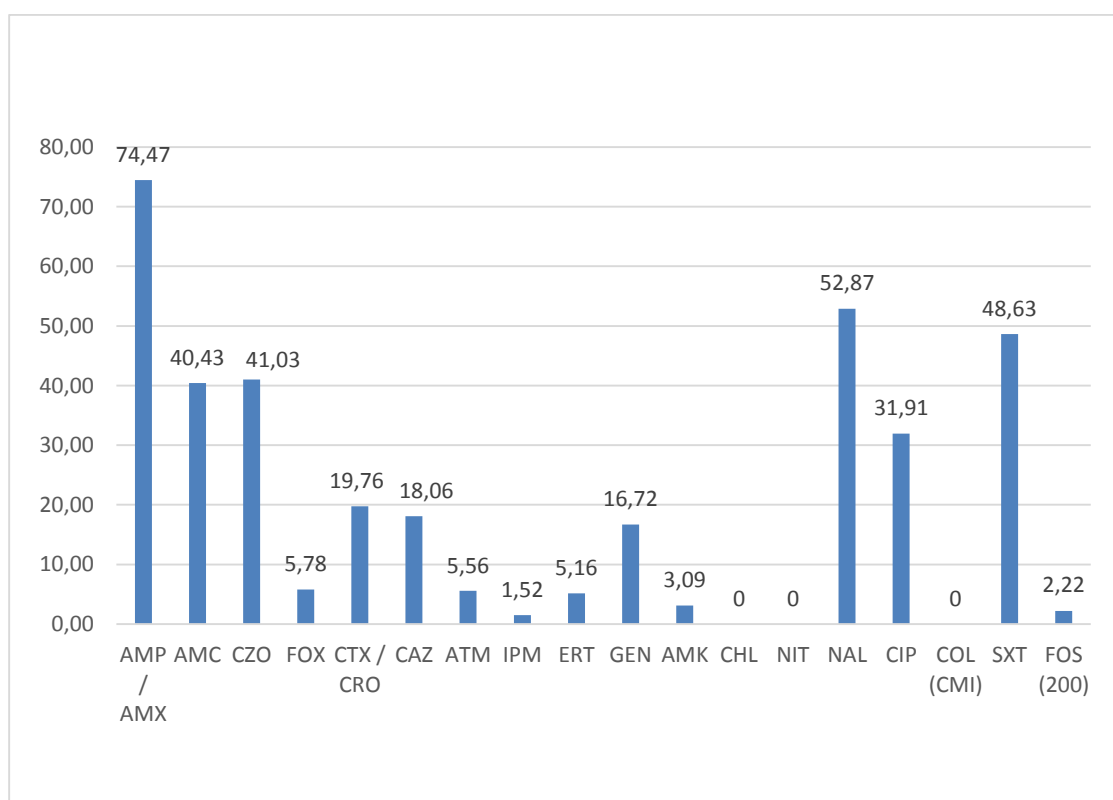


Figure 34 : pourcentage des *Escherichia coli* isolées d'urines résistantes (R + I) aux antibiotiques.

b) *Escherichia coli* isolées d'hémocultures

Tableau 18 : Nombre totale des souches d'*Escherichia coli* isolées d'hémocultures testés pour chaque molécule.

Antibiotique	AMP/AMX	AMC	CZO	FOX	CTX/CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AMK	CHL	NIT	NAL	CIP	COL(CMI)	SXT	FOS(200)
Total	19	19	19	19	19	3	3	19	3	19	3	0	6	16	19	16	19	16

Les résultats montrent que les *Escherichia coli* isolée d'hémocultures est hautement résistante aux Ampicilline/Amoxicilline par rapport aux autres antibiotiques avec un pourcentage de 84,21% (figure 35).

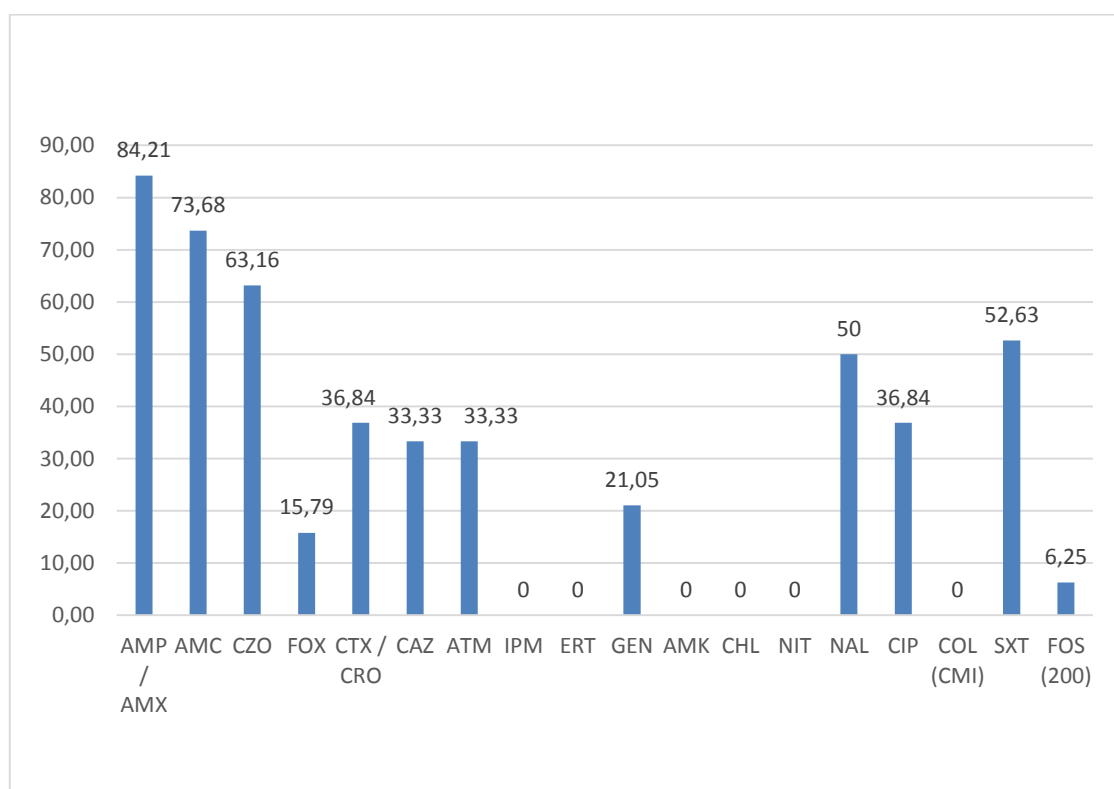


Figure 35 : pourcentage des *Escherichia coli* isolées d'hémocultures résistantes (R + I) aux antibiotiques

c) *Klebsiella pneumoniae* isolées d'hémocultures

Tableau 19 : Nombre totale des souches des *Klebsiella pneumoniae* isolées d'hémocultures testés pour chaque molécule.

Antibiotique	AMC	CZO	FOX	CTX/CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AMK	CHL	NIT	NAL	CIP	COL(CMI)	SXT	FOS
Tota	29	29	29	29	15	15	29	29	29	15	0	29	12	29	14	29	19

La figure 36 montre que *Klebsiella pneumoniae* isolée d'hémocultures est hautement résistante aux CZO : Cefazoline par rapport aux autres antibiotiques avec un pourcentage de 89,66 %.

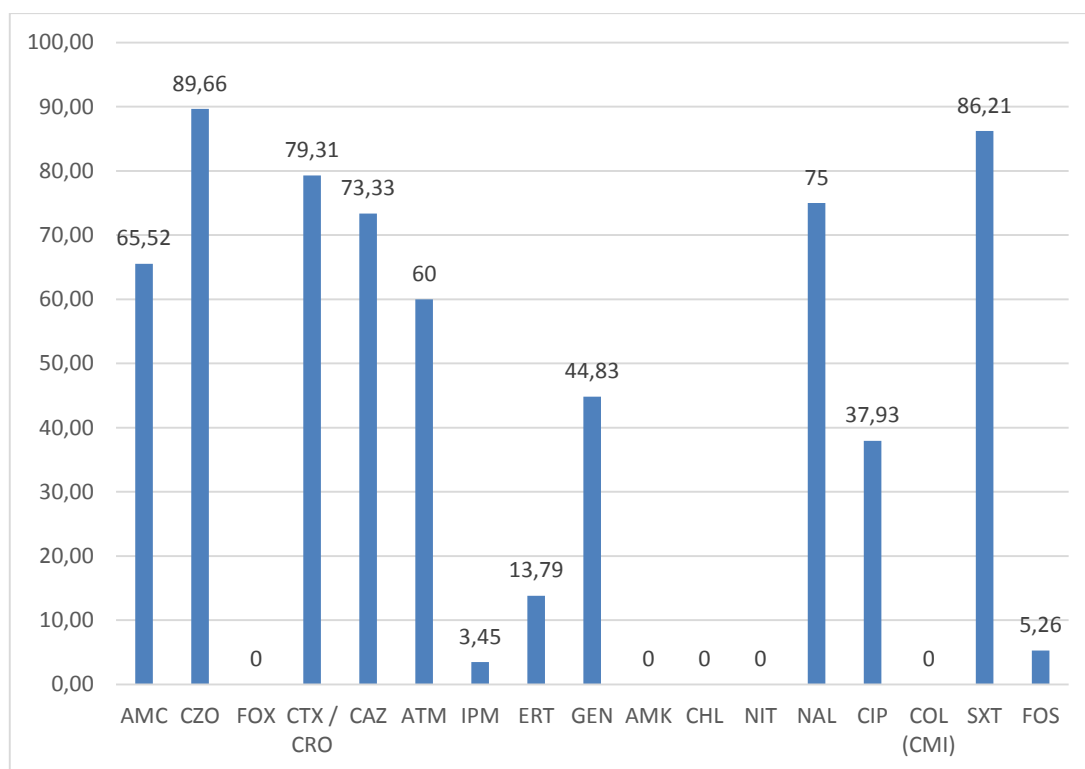


Figure 36 : pourcentage des *Klebsiella pneumoniae* isolées d'hémocultures résistantes (R + I) aux antibiotiques

d) *Klebsiella pneumoniae* isolées des urines

Tableau 20 : Nombre totale des souches des *Klebsiella pneumoniae* isolées des urines testés pour chaque molécule

Antibiotique	AMC	CZO	FOX	CTX/CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AM	CHL	NIT	NAL	CIP	COL(CMI)	SXT	FOS
Total	80	80	80	80	43	43	80	43	80	43	0	66	37	80	37	80	64

D'après les résultats de La figure 37 *Klebsiella pneumoniae* isolée des urines est hautement résistante aux CZO : Cefazoline par rapport aux autres antibiotiques avec un pourcentage de 61,25 %.

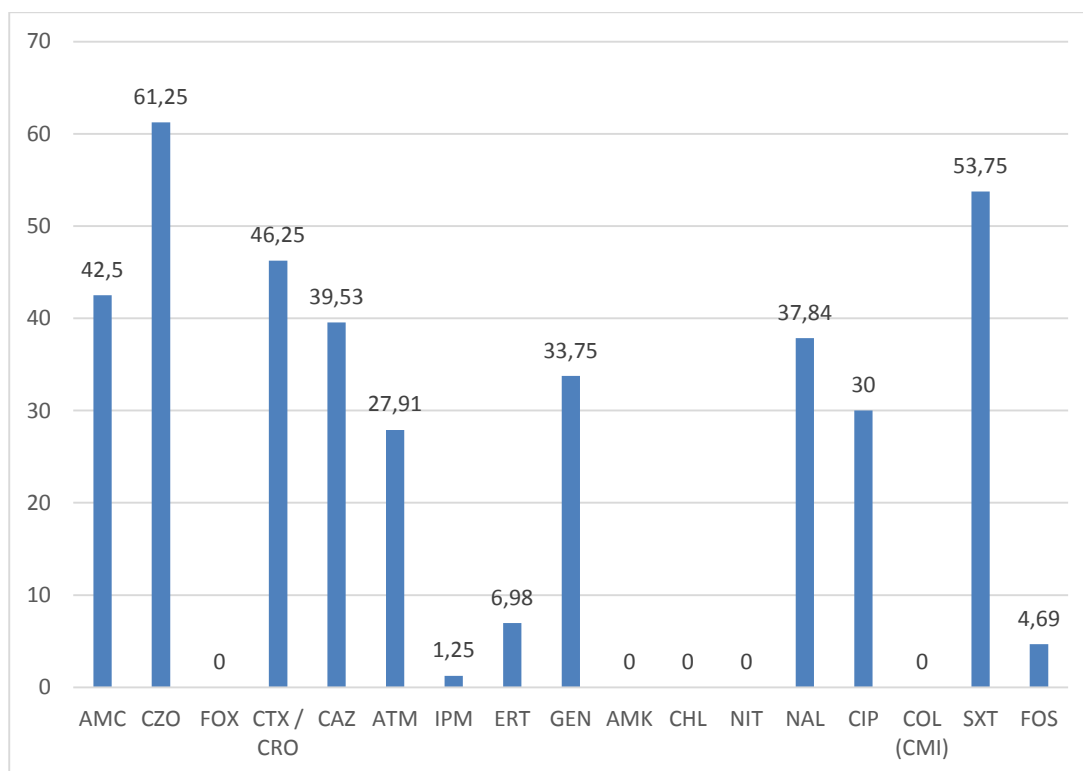


Figure 37 : pourcentage des *Klebsiella pneumoniae* isolées des urines résistantes (R + I) aux antibiotiques

e) *Proteus mirabilis* isolés d'hémocultures

Tableau 21 : Nombre totale des souches des *Proteus mirabilis* isolés d'hémocultures testés pour chaque molécule.

Antibiotique	AMP/AMX	AMC	CZO	FOX	CTX/CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AMK	CHL	NAL	CIP	SXT	FOS(200)
Total	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4

La figure 38 montre que les *Proteus mirabilis* isolée d'hémocultures est hautement résistante aux NAL (Acide nalidixique) avec un pourcentage de 100 %, suivi par AMP/AMX (Ampicilline/Amoxicilline), GEN : Gentamicine et SXT (Cotrimoxazole) avec 75 % ainsi CIP (Ciprofloxacine) avec 50 % mais elles sont sensible aux restes des antibiotiques.

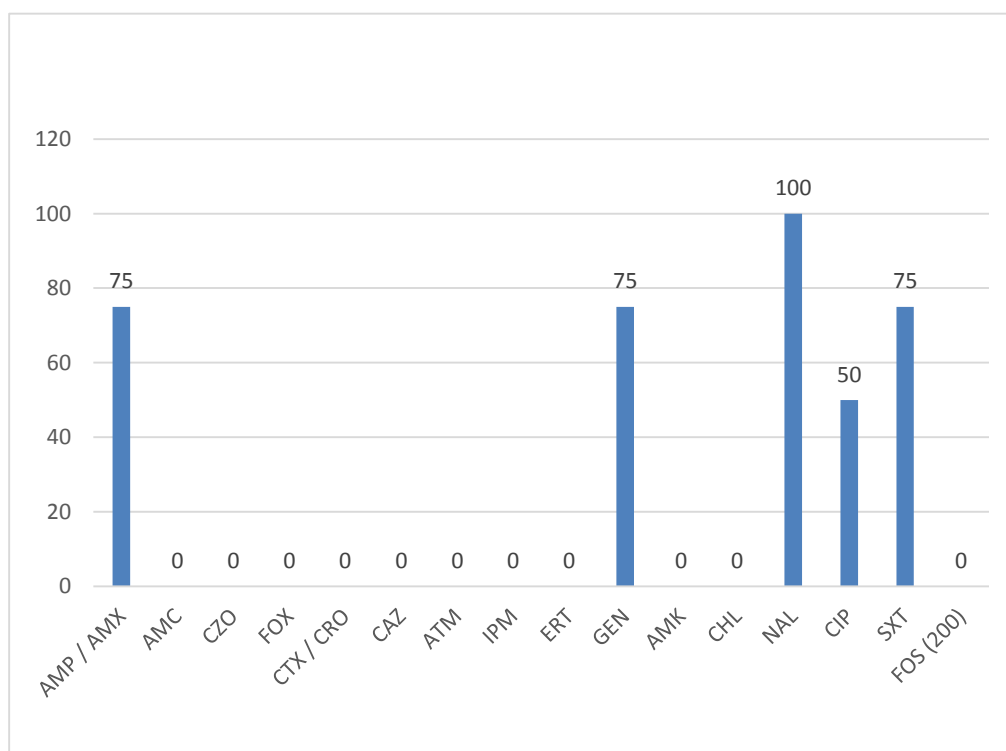


Figure 38 : pourcentage des *Proteus mirabilis* isolés d'hémocultures résistants (R + I) aux antibiotiques.

f) *Proteus mirabilis* isolés d'urines

Tableau 22 : Nombre totale des souches des *Proteus mirabilis* isolés d'urines testés pour chaque molécule.

Antibiotique	AMP/AMX	AMC	CZO	FOX	CTX/CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AMK	CHL	NAL	CIP	SXT	FOS(200)
Total	18	18	18	18	18	7	7	18	11	18	11	0	11	18	18	14

Les résultats montrent que les *Proteus mirabilis* isolés d'urines sont hautement résistante aux NAL (Acide nalidixique) avec un pourcentage de 90,91 % suivi par AMP/AMX (Ampicilline/Amoxicilline) avec 83,33 %, par rapport aux d'autre antibiotique (figure 39).

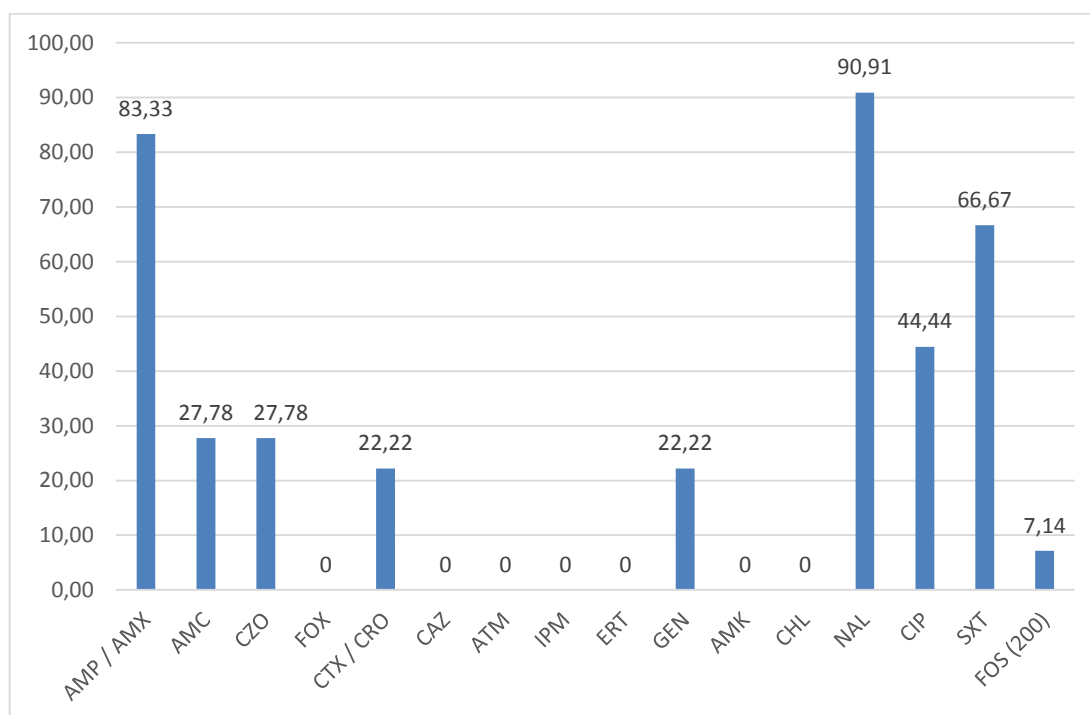


Figure 39 : pourcentage des *Proteus mirabilis* isolés d'urines résistants (R + I) aux antibiotiques.

g) *Enterobacter cloacae* isolés d'hémocultures

Tableau 23 : Nombre totale des souches des *Enterobacter cloacae* isolés d'hémocultures testés pour chaque molécule.

Antibiotique	CTX/CRO	CAZ	ATM	IPM	ERT	GEN	AMK	CHL	NIT	NAL	CIP	COL(CMI)	SXT	FOS
Total	4	4	2	4	4	4	4	0	4	4	4	4	4	4

Les résultats présentés dans la figure 40 dévoilent que les *Enterobacter cloacae* sont plus résistantes aux NAL : Acide nalidixique, SXT : Cotrimoxazole avec un pourcentage de 75 % suivi par CTX/CRO : Cefotaxime/ceftriaxone, CAZ (Céftazidime) avec un pourcentage de 50%, ainsi CIP : Ciprofloxacine avec un pourcentage de 25 %. Mais elles sont sensibles aux restes d'antibiotiques. (Figure 40).

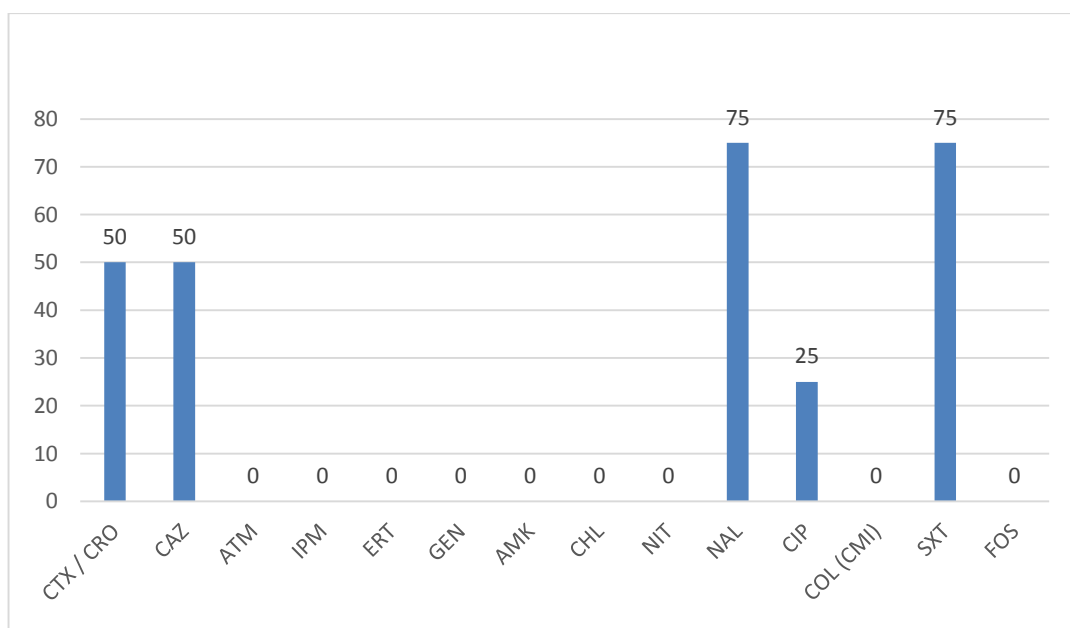


Figure 40 : pourcentage des *Enterobacter cloacae* isolés d'hémocultures résistants (R + I) aux antibiotiques.

h) *Pseudomonas aeruginosa* isolés d'hémocultures

Tableau 24 : Nombre totale des souches des *Pseudomonas aeruginosa* isolés d'hémocultures testés pour chaque molécule.

Antibiotiques	TIC	TCC	PIP	CAZ	ATM	IPM	GEN	TOB	NET	AMK	CIP	LVX	FOS(CMI)	COL
Total	26	0	17	29	23	30	29	14	0	7	28	7	27	25

La figure 41 indique que les *Pseudomonas aeruginosa* isolées d'hémocultures sont hautement résistantes aux TIC (Ticarilline) avec un pourcentage de 61,54 % par rapport aux autres antibiotiques.

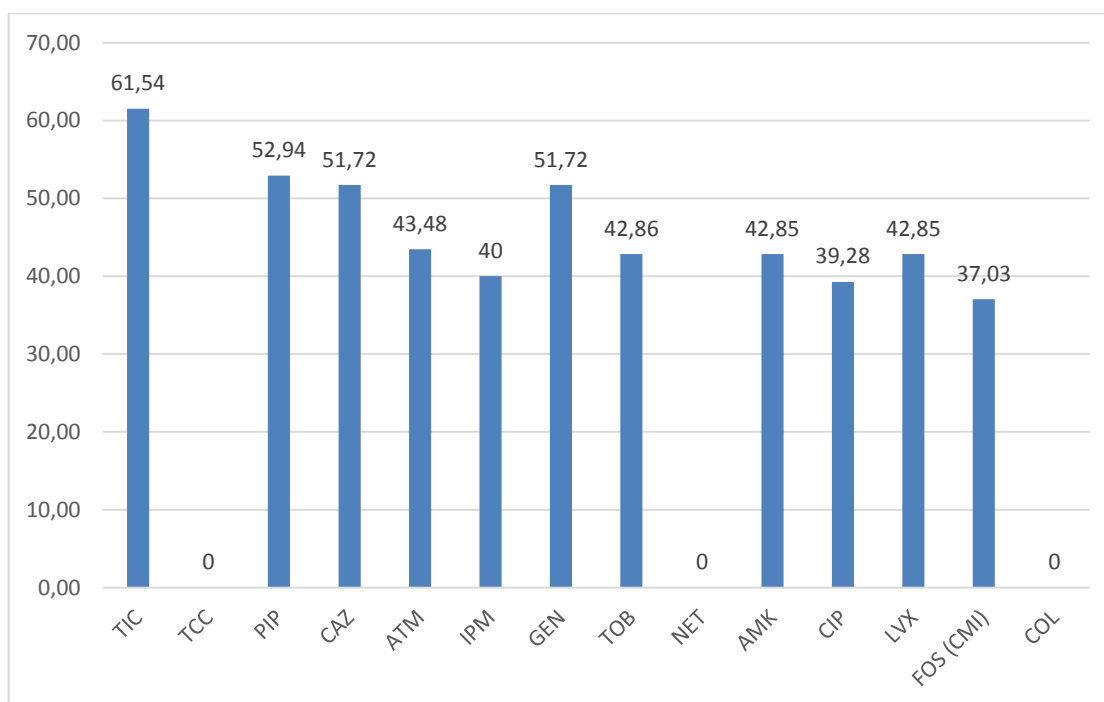


Figure 41 : Pourcentage des *Pseudomonas aeruginosa* isolés d'hémocultures résistants (R + I) aux antibiotiques.

3. Profil des Bactéries Multirésistantes par service

Les résultats sont représentés dans les tableaux suivants

Tableau 25 : Répartition par marqueur de résistance des bactéries isolées dans les services de médecine, réanimation, chirurgie et urgence.

	Médecine			Réanimation			Chirurgie			Urgences		
	NBR	TOT	%	NBR	TOT	%	NBR	TOT	%	NBR	TOT	%
<i>Entérobactéries BLSE</i>	248	682	36,36	74	104	71,15	42	135	31,11	19	71	26,76
<i>A. baumannii BLSE</i>	12	21	57,14	54	66	81,82	22	27	81,48	6	7	85,71
<i>P. aeruginosa BLSE</i>	5	46	10,87	25	55	45,45	6	42	14,29	2	7	28,57
Total	265	749	35,38	153	225	68	70	204	34,31	27	85	31,76

Tableau 26 : Répartition par marqueur de résistance des bactéries isolées dans le service de pédiatrie et d'autres services.

	Pédiatrie			Autres services			Total		
	NBR	TOT	%	NBR	TOT	%	NBR	TOT	%
<i>Entérobactéries BLSE</i>	63	143	44,06	9	94	9,57	455	1229	37,02
<i>A. baumannii BLSE</i>	7	10	70	0	0	0	101	131	77,10
<i>P. aeruginosa BLSE</i>	1	11	9,09	1	5	20	40	166	24,10
Total	71	164	43,29	10	99	10,10	596	1526	39,06

TOT *: correspond au nombre total de souches isolées dans le service, pour l'espèce considérée

- a- Les résultats dans le service de médecine (tableau 25) indiquent que ;
- Parmi les souches d'*Entérobactéries* isolées dans le service 36,36 % sont des *Entérobactéries BLSE*
 - Parmi les souches *A. baumannii* isolées dans le service 57,14 % sont des *A. baumannii BLSE*
 - Parmi les souches *P. aeruginosa* isolées dans le service 10,87 % sont des *P. aeruginosa BLSE*
- b- Les résultats dans le service de réanimation (tableau 25) indiquent que ;
- Parmi les souches d'*Entérobactéries* isolées dans le service 71,15 % sont des *Entérobactéries BLSE*

- Parmi les souches *A. baumannii* isolées dans le service 81,82 % sont des *A. baumannii BLSE*
- Parmi les souches *P. aeruginosa* isolées dans le service 45,45 % sont des *P. aeruginosa BLSE*
- c- Les résultats dans le service de chirurgie (tableau 25) indiquent que ;
 - Parmi les souches d'*Entérobactéries* isolées dans le service 31,11 % sont des *Entérobactéries BLSE*
 - Parmi les souches *A. baumannii* isolées dans le service 81,48 % sont des *A. baumannii BLSE*.
 - Parmi les souches *P. aeruginosa* isolées dans le service 14,29 % sont des *P. aeruginosa BLSE*
- d- Les résultats dans le service d'urgence (tableau 25) montrent que ;
 - Parmi les souches d'*Entérobactéries* isolées dans le service 26,76 % sont des *Entérobactéries BLSE*
 - Parmi les souches *A. baumannii* isolées dans les services 85,71 % sont des *A. baumannii BLSE*
 - Parmi les souches *P. aeruginosa* isolées dans les services 28,57 % sont des *P. aeruginosa BLSE*
- e- Les résultats dans le service de pédiatrie (tableau 26) montrent que ;
 - Parmi les souches d'*Entérobactéries* isolées dans le services 26,76 % sont des *Entérobactéries BLSE*
 - Parmi les souches *A. baumannii* isolées dans le service 85,71 % sont des *A. baumannii BLSE*
 - Parmi les souches *P. aeruginosa* isolées dans le service 28,57 % sont des *P. aeruginosa BLSE*
- f- Les résultats dans les autres services (tableau 26) montrent que ;
 - Parmi les souches d'*Entérobactéries* isolées dans les autres services 9,57 % sont des *Entérobactéries BLSE*
 - Parmi les souches *A. baumannii* isolées dans les autres services 0 % sont des *A. baumannii BLSE*
 - Parmi les souches *P. aeruginosa* isolées dans les autres services 20 % sont des *P. aeruginosa BLSE*
- g- Les résultats dans le totale des services (tableau 26) montrent que ;

- Parmi les souches d'*Entérobactéries* isolées dans les services 37,02 % sont des *Entérobactéries BLSE*
- Parmi les souches *A. baumannii* isolées dans les services 77,10 % sont des *A. baumannii BLSE*
- Parmi les souches *P. aeruginosa* isolées dans les services 24,10 % sont des *P. aeruginosa BLSE*

4. Profil de BLSE par service

La répartition des *Acinetobacter baumannii BLSE* dans le service de médecine représente **55** % des BLSE suivi par les entérobactéries BLSE avec 35 % ainsi les *Pseudomonas aeruginosa BLSE* avec 10 % (figure 42).

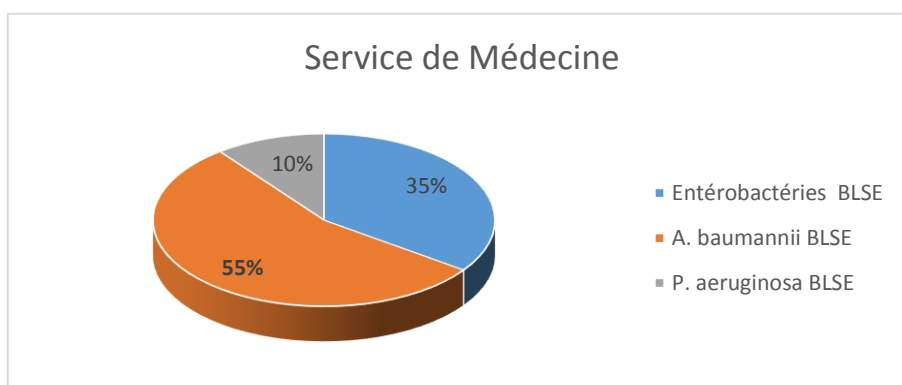


Figure 42 : répartition des BLSE dans le service de médecine

Le pourcentage des *Acinetobacter baumannii BLSE* dans les services de réanimation représente **41** % des BLSE c'est le pourcentage le plus élevé suivi de près par les entérobactéries BLSE avec 36 % ainsi les *Pseudomonas aeruginosa BLSE* 23 % (figure 43).

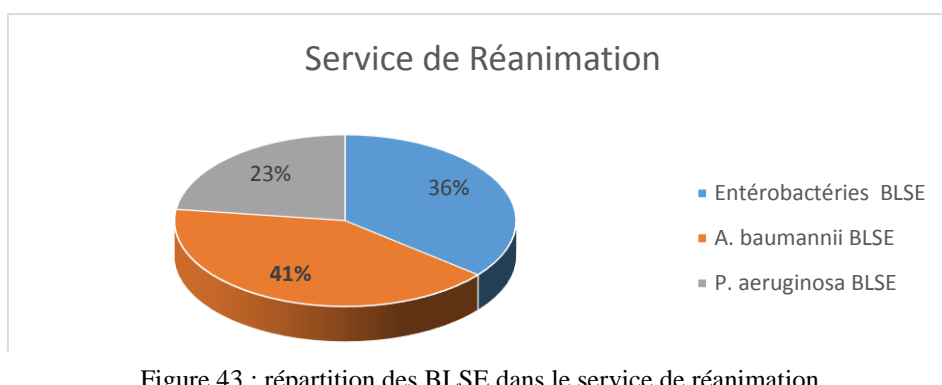


Figure 43 : répartition des BLSE dans le service de réanimation

Le pourcentage des *Acinetobacter baumannii* BLSE dans les services de chirurgie représente **64 %** des BLSE c'est le plus élevé suivi par les entérobactéries BLSE avec 25 % ainsi les *Pseudomonas aeruginosa* BLSE 11 % (figure 44).

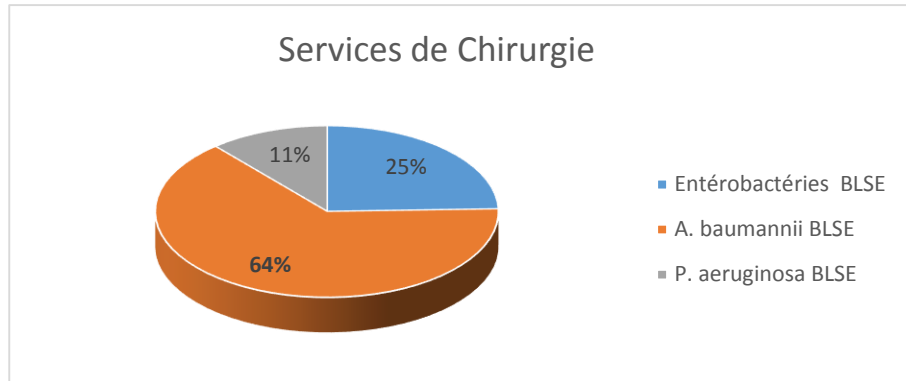


Figure 44 : répartition des BLSE dans le service de chirurgie

La répartition des *Acinetobacter baumannii* BLSE dans le service d'urgence représente **61 %** des BLSE suivi par les *Pseudomonas aeruginosa* BLSE avec 20 % ainsi les entérobactéries BLSE avec 19 % (figure 45).

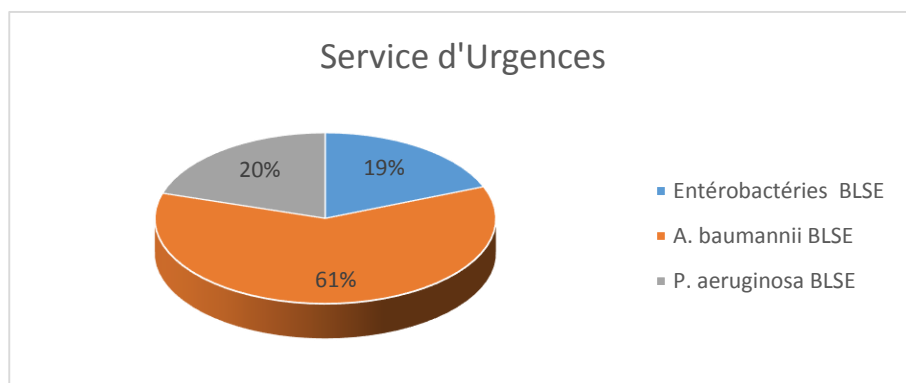


Figure 45 : répartition des BLSE dans le service d'urgence

La répartition des *Acinetobacter baumannii* BLSE dans les services de pédiatrie représente **57 %** des BLSE suivi par les entérobactéries BLSE avec 36 % ainsi les *Pseudomonas aeruginosa* BLSE avec 7 % (figure 46).

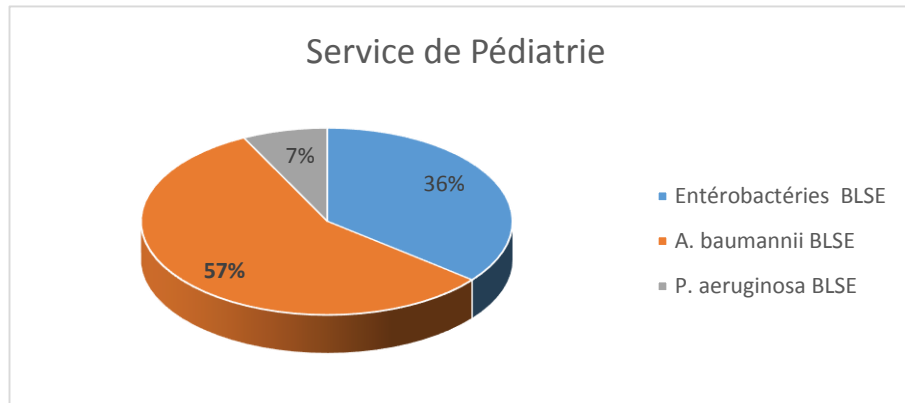


Figure 46 : répartition des BLSE dans le service de pédiatrie

Le pourcentage des *Pseudomonas aeruginosa* BLSE dans les autres services représente **68 %** des BLSE c'est le plus élevé suivi par les entérobactéries BLSE avec 32 % ainsi l'absence des *Acinetobacter baumannii* BLSE (0 %) (Figure 47).

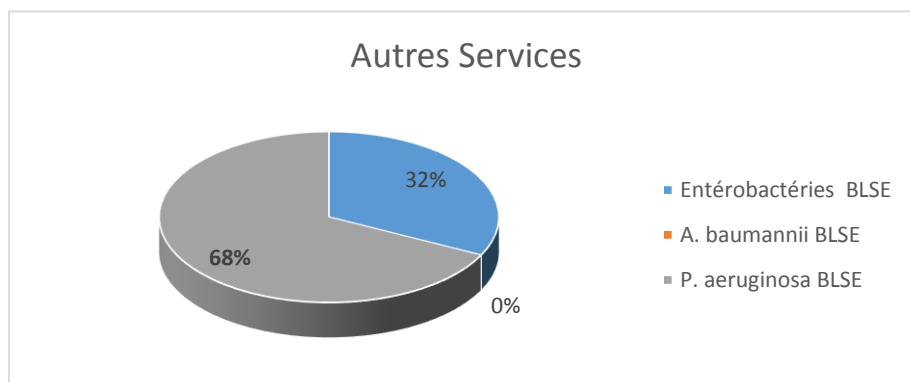


Figure 47 : répartition des BLSE dans les autres services

Acinetobacter baumannii BLSE est la plus fréquente au niveau de CHU Constantine avec un pourcentage **56 %** des BLSE suivi par les entérobactéries BLSE avec 27 % ainsi les *Pseudomonas aeruginosa* BLSE avec 17 % (figure 48).

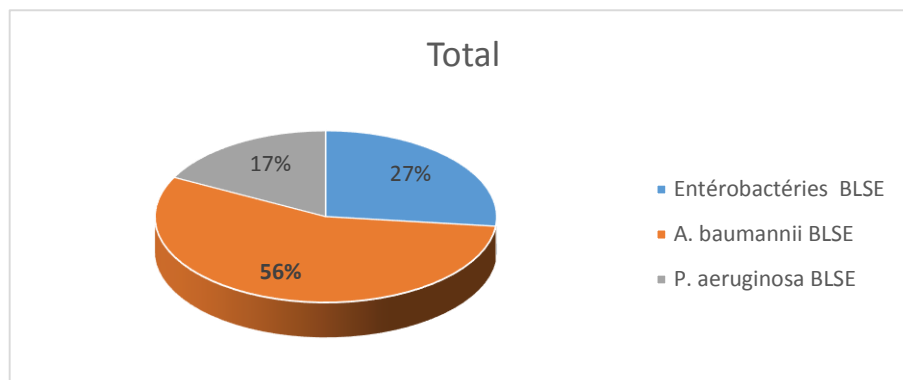


Figure 48 : répartition des BLSE dans tous les services de CHU Constantine

5. Profil des enterobactéries BLSE par service et par espèce

La figure 49 représente que *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquente dans le service de médecine avec un pourcentage de 34 % suivie de près par entérobacter spp. Avec 31 % ainsi *E. coli* avec 14 %, *Serratia marcescens* avec 13 %, *Proteus* spp. Avec 8 %, et l'absence des *Salmonella* spp.

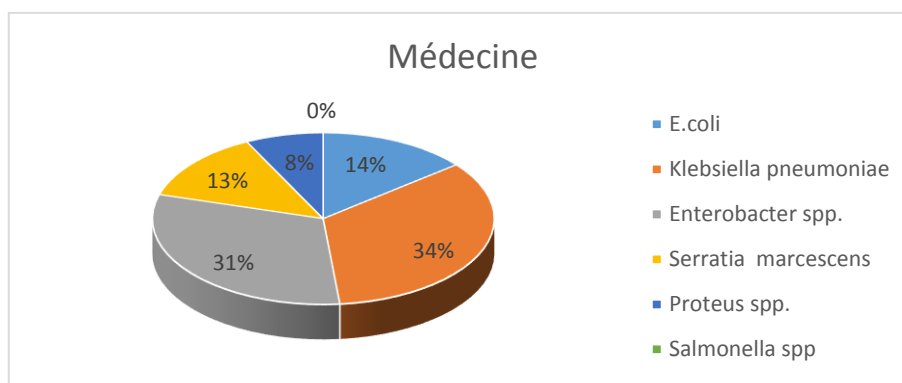


Figure 49 : répartition des EBLSE dans le service de médecine

La figure 50 montre que entérobacter spp. Est la plus fréquente dans le service de réanimation avec un pourcentage de 42 % suivie par *Klebsiella pneumoniae* 34 % ainsi *E. coli* avec 17 %, *Proteus spp.* Avec 7 %, et l'absence des *Salmonella spp.* Et *Serratia marcescens*

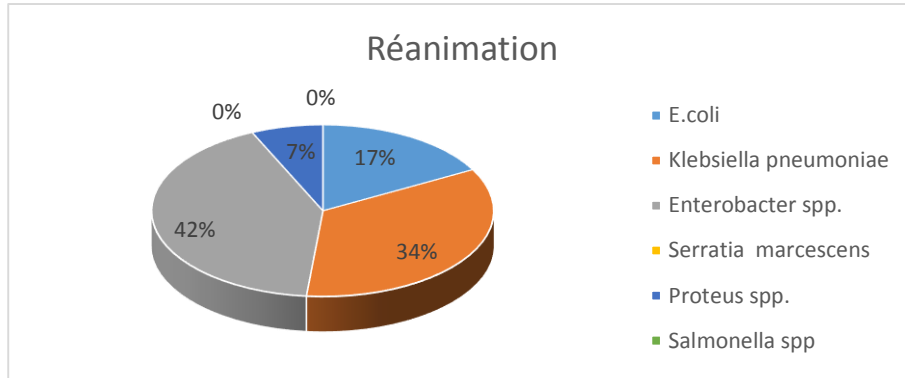


Figure 50 : répartition des EBLSE dans le service de réanimation

La figure 51 représente que *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquente dans le service de chirurgie avec un pourcentage de 41 % suivie par *E. coli* Avec 23 % ainsi entérobacter spp. Avec 24 %, *Proteus spp.* Avec 12 %, et l'absence des *Serratia marcescens* et *Salmonella spp.*

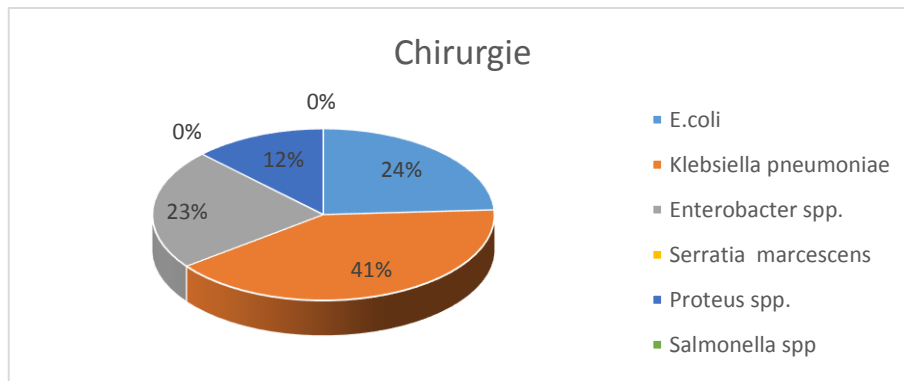


Figure 51 : la répartition des EBLSE dans les services de chirurgie

La figure 52 représente que *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquente dans le service d'urgence avec un pourcentage de 34 % suivie par entérobacter spp. Avec 29 % ainsi *E. coli* avec 25 %, *Proteus* spp. Avec 12 %, et l'absence des *Salmonella* spp. Et des *Serratia marcescens*.

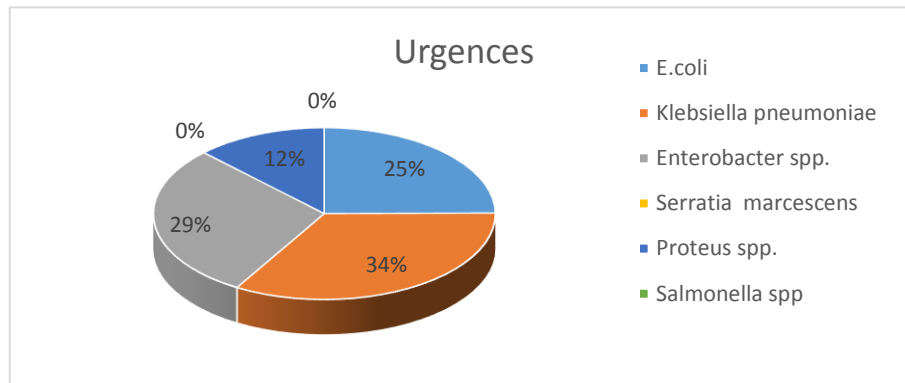


Figure 52 : répartition des EBLSE dans le service d'urgence

La figure 53 montre que *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquente dans le service de pédiatrie avec un pourcentage de 30 % suivie de près par *Salmonella* spp. Avec 28 % ainsi *E. coli* avec 24 %, entérobacter spp. Avec 18 %, et l'absence des *Serratia marcescens* et *Proteus* spp.

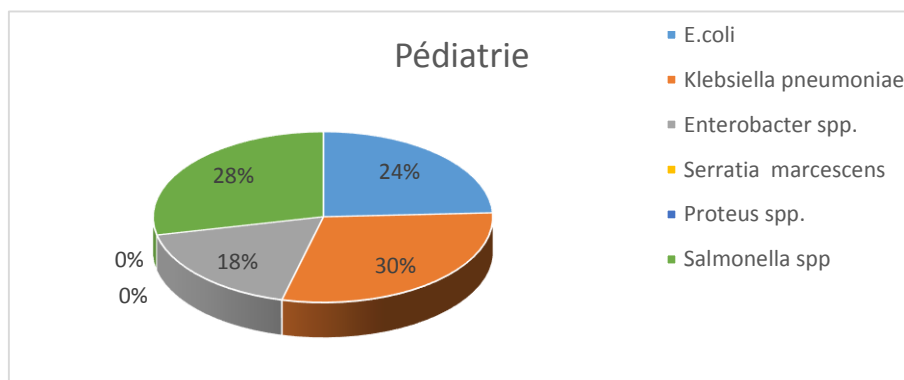


Figure 53 : répartition des EBLSE dans le service de pédiatrie

La figure 54 montre que l'entérobacter spp. Est la plus fréquente dans les autres services avec un pourcentage de 50 % suivie par *E. coli* 30 % ainsi *Proteus* spp. Avec 15 %, *Klebsiella pneumoniae* avec 5 % et l'absence des *Salmonella* spp. Et *Serratia marcescens*

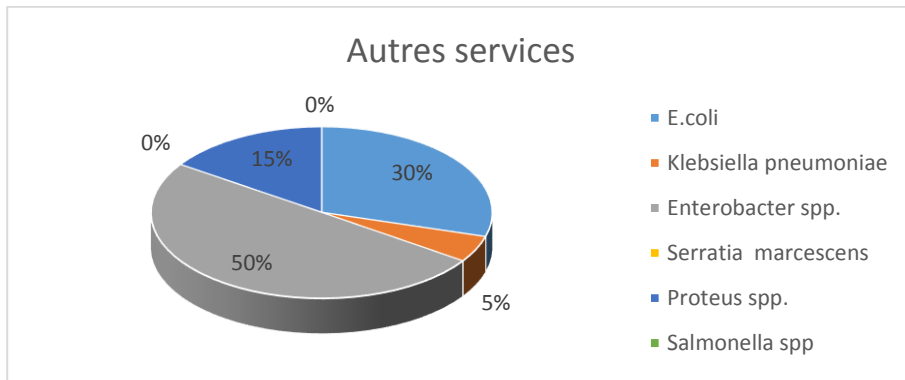


Figure 54 : répartition des EBLSE dans les autres services

La figure 55 représente que *Klebsiella pneumoniae* et entérobacter spp. Sont les plus fréquentes dans le total des services avec un pourcentage de 25 % suivie de près par *Salmonella* spp. Avec 23 % ainsi *E. coli* avec 15 %, *Serratia marcescens* avec 6 % et *Proteus* spp. Avec 6 %.

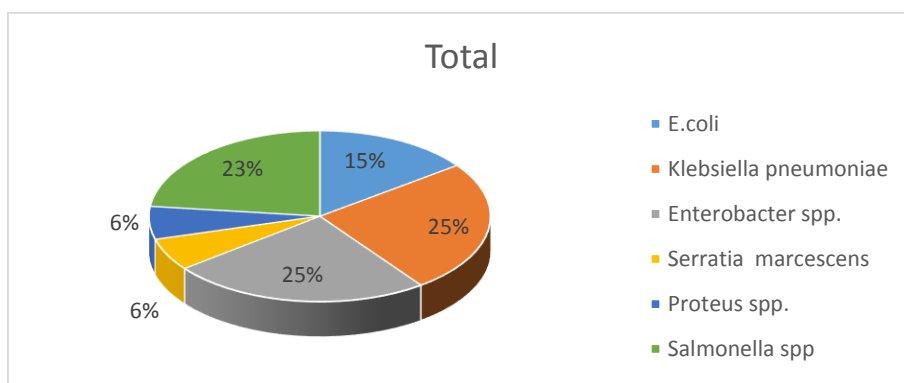


Figure 55 : répartition des EBLSE dans le total des services

6. Profil des Bactérie Multirésistance par type de prélèvement

La répartition des entérobactéries BLSE dans les prélèvements d'hémoculture est de 67% des BLSE suivi par *Acinetobacter baumannii* BLSE avec 20 % ainsi les *Pseudomonas aeruginosa* BLSE avec 13 % (figure 56).

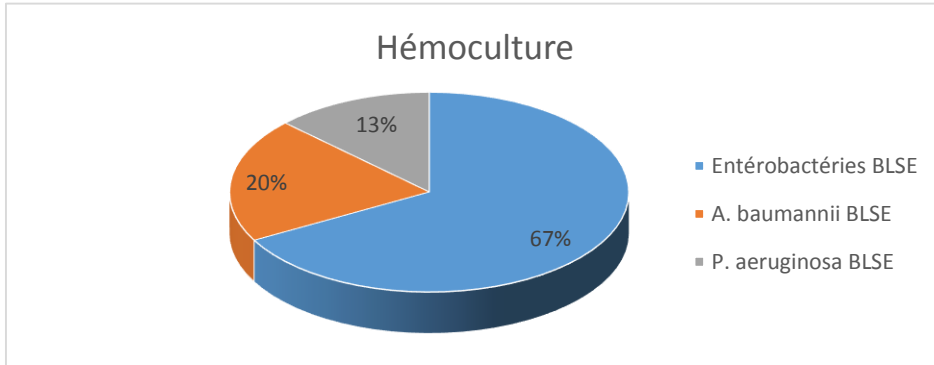


Figure 56 : répartition des BLSE dans les prélèvements d'Hémoculture

Le pourcentage des entérobactéries BLSE dans les prélèvements d'urine représente la totalité des BLSE avec l'absence des *Acinetobacter baumannii* BLSE et les *Pseudomonas aeruginosa* (figure 57).

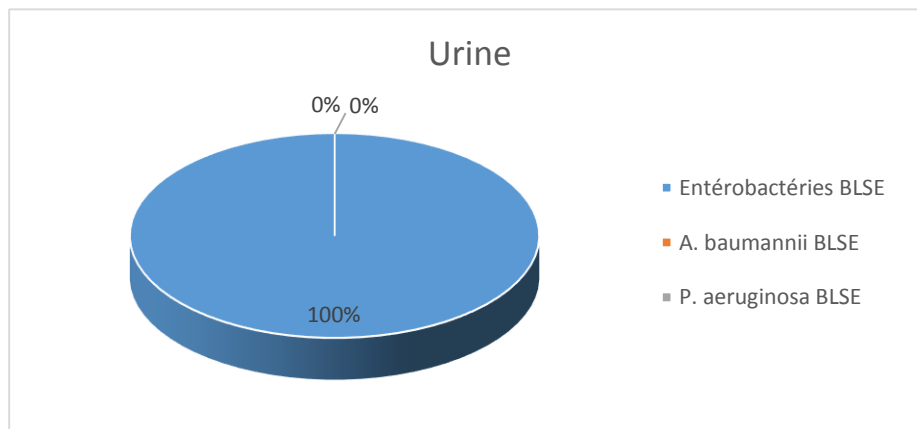


Figure 57 : répartition des BLSE dans les prélèvements d'urine

Le pourcentage des entérobactéries BLSE dans les prélèvements de liquide céphalo rachidien LCR représente la totalité des BLSE avec l'absence des *Acinetobacter baumannii* BLSE et les *Pseudomonas aeruginosa* (figure 58).

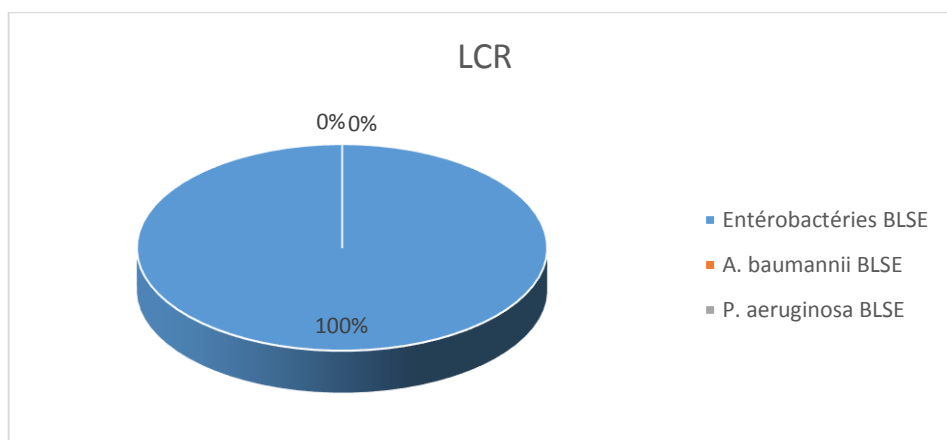


Figure 58 : répartition des BLSE dans les prélèvements de liquide céphalo rachidien

La répartition des entérobactéries BLSE dans les prélèvements des infections respiratoire est 55 % des BLSE suivi par *Acinetobacter baumannii* BLSE avec 31 % ainsi les *Pseudomonas aeruginosa* BLSE avec 14 % (figure 59).

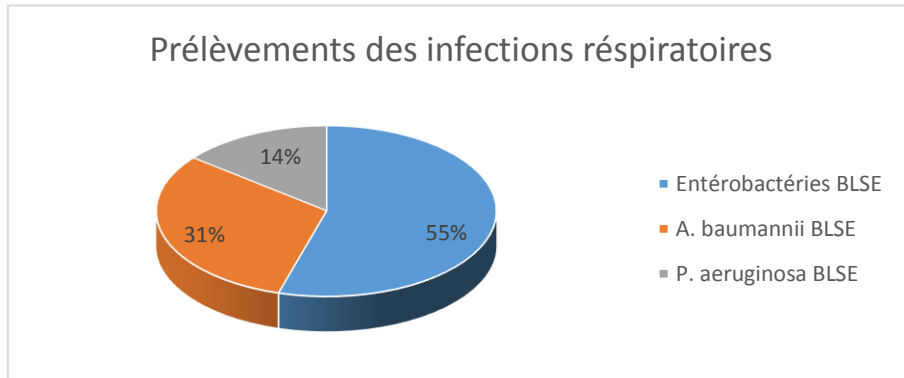


Figure 59 : répartition des BLSE dans les prélèvements des infections respiratoires

Le pourcentage des entérobactéries BLSE dans les prélèvements de coproculture représente la totalité des BLSE avec l'absence des *Acinetobacter baumannii* BLSE et les *Pseudomonas aeruginosa* (figure 60).

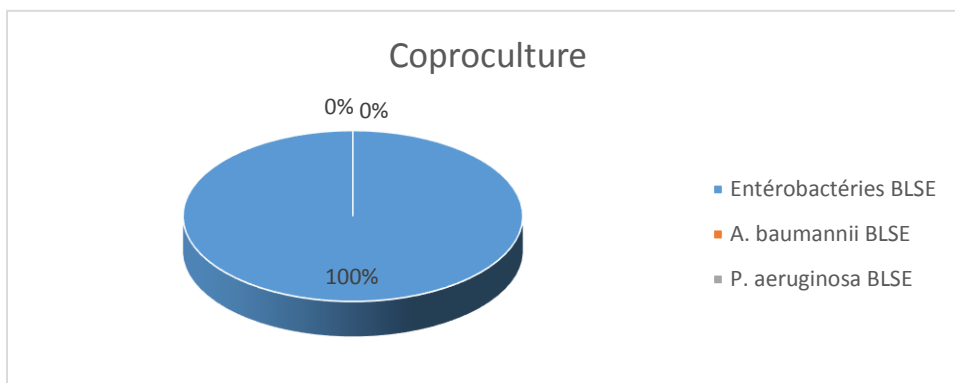


Figure 60 : répartition des BLSE dans les prélèvements de coproculture

Chapitre 5
Discussion

Notre travail a été réalisé au sein du CHU BEN BADIS de la wilaya de Constantine durant le mois de Mai 2018. C'est une étude descriptive de la résistance aux antibiotiques des bactéries à gram négatif productrices des β -lactamase à spectre étendu ou élargie au cours de l'année 2017.

A la résistance naturelle aux β -lactamines peut s'ajouter un ou plusieurs mécanismes de résistance acquise. La résistance acquise par production de β -lactamase est le mécanisme prépondérant. Cependant, la fréquence des autres mécanismes de résistance, souvent exprimés à bas niveau, pourrait être sous-estimée faute d'études épidémiologiques. Les premières souches productrices de BLSE appartenaient à l'espèce *K. pneumoniae*. , leur fréquence a augmenté chez cette espèce de 1% à 20% entre 1985 et 1991[60]. En France A l'hôpital, environ 70 % des souches de *K. pneumoniae*, sont de phénotype sauvage ou sensible. [35].

D'après nos résultats au sein du CHU Constantine *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE est la plus fréquente dans les services de la pédiatrie avec un pourcentage de 30 %, les services de médecine avec 34 %, les services de chirurgie avec 41 %, d'urgence avec 34 %. Dans les services de réanimation de L'hôpital, les entérobacter spp. BLSE sont les plus fréquentes avec un pourcentage de 42 % suivie par *Klebsiella pneumoniae* BLSE avec 34 % ainsi d'*E. Coli* BLSE avec 17 % ;

Mais dans le total des services, les souches productrice de BLSE comme *Klebsiella pneumoniae et entérobacter* spp. Sont les plus fréquentent avec un pourcentage de 25 % suivie de près par *Salmonella* spp. Avec 23 % ainsi *E. coli* avec 15 %, *Serratia marcescens* avec 6 %, et *Proteus* spp. Avec 6 %.

D'après le rapport d'évaluation 2015 de l'AARN le pourcentage des entérobactéries productrices de BLSE est plus élevé par rapports à nos résultats, on a dans CHU Mustapha Bacha d'Alger : *Klebsiella pneumoniae* avec 44.94 %, *E. coli* avec 25.9 %, entérobacter spp avec 34.52 %, *Serratia marcescens* avec 18.30 %, *Proteus* spp. avec 11.22 %, *Salmonella* spp. avec 0 %. Et dans CHU ORAN : *Klebsiella pneumoniae* avec 45.89 %, *E. coli* avec 20 %, entérobacter spp avec 29.67 %, *Serratia marcescens* avec 0 %, *Proteus* spp. avec 11.95 %, *Salmonella* spp. 0 % [64].

En 2008 au CHU du point G de Bamako, d'prés docteur DIOMAN S A, En milieu hospitalier, la fréquence de production de BLSE est de 26 % chez *E. coli*, 42,8 % chez *K. pneumoniae*, 30 % chez *E. cloacae* [58].

D'après ONERBA, Au cours des dernières années, la distribution des espèces d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi a été considérablement modifiée avec l'apparition et l'augmentation de souches de *Escherichia coli* et la réduction concomitante de *Enterobacter aerogenes* et de *Klebsiella pneumoniae* qui en fonction des réseaux étaient les espèces les plus fréquemment isolées depuis les années 1990. En 2013, dans tous les réseaux, la moitié des EBLSE sont des *E. coli* contre moins de 10% en 1995 par exemple pour le réseau de l'AP-HP. Cette tendance est observée dans les autres régions françaises avec un léger décalage dans le temps. Ainsi en 2013, dans le réseau du CCLIN Paris-Nord, 58 % des EBLSE sont des souches de *E. coli* contre 6% en 2000 alors que les souches d'*Enterobacter aerogenes* ne représentent plus que 2% en 2013 contre 56% en 2000. Dans le réseau REUSSIR en 2013, le pourcentage au sein de l'espèce *E. coli* de souches produisant une BLSE est de près de 7% contre 0,2% en 2002. Parallèlement, en 2013, dans tous les réseaux, la proportion de souches de *Klebsiella pneumoniae* est de nouveau en augmentation [63].

D'après nos résultats, *Escherichia coli* est hautement résistante aux Ampicilline/Amoxicilline par un pourcentage de 78,66% par rapport aux autres antibiotiques. *Klebsiella pneumoniae* est hautement résistant aux CZO : Cefazoline avec un pourcentage de 70,09 % par rapport aux autres antibiotiques.

En 2013 au Laboratoire de bactériologie des Hôpitaux universitaires de Genève (HUG), la fréquence de résistance des isolats cliniques d'*E. Coli* et *K. pneumoniae* est de 15 et 18% pour la céfuroxime, et de 10 à 13% pour la ceftriaxone et la ceftazidime. La Résistance aux bêtalactamines a un impact majeur, puisqu'elle concerne les germes les plus fréquemment impliqués en pathologie infectieuse, aussi bien en milieu intra qu'extrahospitalier[62].

D'après nos résultats *Pseudomonas aeruginosa* résiste aux TIC (Ticarcilline) par un pourcentage de 36.84 % par rapport aux autres antibiotiques.

D'après l'ONERBA La proportion de souches de *Pseudomonas aeruginosa* multirésistantes définies comme le nombre de souches résistantes à Ticarcilline, Ceftazidime et Imipénème I ou R diminue de 10% à 8 % entre 2008 et 2013 pour le réseau microbiologistes du Nord Pas-de-Calais [63].

D'après les résultats trouvés, Toutes les *salmonella spp.* 100 % (Isolées des coprocultures) sont résistantes aux AMP/AMX (Ampicilline/Amoxicilline), CZO(Cefazoline) par rapport aux d'autres antibiotique.

D'après ONERBA, Chez *Salmonella*, la fréquence est d'environ 90 % mais avec une grande disparité selon les sérogroupes. En 1998 en France [36].

Le pourcentage des entérobactéries BLSE dans les prélèvements d'urine, coproculture, LCR représente la totalité des BLSE avec l'absence des *Acinetobacter baumannii* BLSE et les *Pseudomonas aeruginosa*.

Dans une étude récente, En Europe, le pourcentage des isolats producteurs de BLSE : *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, varie entre 2,7 et 30% suivant les pays. En Suisse, la surveillance de la résistance aux antibiotiques (www.antibioticresistance.ch) a montré que 4,2% des *E. coli* et 7,1% des *K. pneumoniae* testés présentent une résistance. Cependant, entre 2006 et 2013, le nombre d'isolats d'*E. coli* producteurs de BLSE a augmenté de 1,8 à 8,4% et celui de *K. pneumoniae* productrices de BLSE de 5 à 10,2%. De plus, un taux de portage très élevé (16 à 27%) d'entérobactéries productrices de BLSE a été enregistré en Suisse lors de dépistages à l'admission [62].

Les entérobactéries sont un groupe de bactéries fréquemment isolées dans les laboratoires de bactériologie, *E. coli* et *Klebsiella* étant les espèces revenant le plus souvent. Dans la plupart des études, les souches isolées proviennent majoritairement des urines. Dans notre cas, ces isolats représentaient 68,7% de l'ensemble [61].

Dans notre étude, *Acinetobacter baumannii* BLSE est la plus fréquente au niveau de CHU Constantine avec un pourcentage 56 % des BLSE suivi par les entérobactéries BLSE avec 27 % ainsi les *Pseudomonas aeruginosa* BLSE avec 17 %.

D'après le rapport d'évaluation 2015 de l'AARN le pourcentage des bactéries non fermentaire productrices de BLSE est moins élevé par rapports à nos résultats, on a dans CHU Mustapha Bacha d'Alger : *Acinetobacter baumannii* BLSE avec 10.39 %, *Pseudomonas aeruginosa* avec 0.31 %. Et dans CHU Blida : *Acinetobacter baumannii* avec 46.42 %, *E. Pseudomonas aeruginosa* avec 0 % [64].

Aussi, cette étude montre que *Pseudomonas aeruginosa* BLSE représente 68 % des BLSE dans les autres services, au contraire dans les services de médecine, réanimation, urgence, chirurgie et pédiatrie, des *Acinetobacter baumannii* BLSE sont hautement fréquent suivi par les entérobactéries BLSE.

Au contraire dans plusieurs études, *P. aeruginosa* a été isolé surtout chez des malades hospitalisés dans les services de réanimation, de chirurgie et d'ORL [59].

Conclusion

Conclusion

Cette étude montre le niveau de résistance des germes vis-à-vis des antibiotiques, elle varie d'un service hospitalier à l'autre, Nous avons constaté que pendant l'année 2017, une augmentation du taux de résistance aux antibiotiques des principaux germes isolés. Notre étude montre un niveau de résistance très élevé de nos souches *vis-à-vis* d'antibiotiques majeurs si on compare nos données à celles d'autres pays. Des souches présentant des hauts niveaux de résistance aux bêta-lactamines sont majoritaires dans les divers types de prélèvements étudiés au niveau des différents services hospitaliers. Des tests spécifiques de recherche des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) doivent être mis en place au sein du laboratoire, afin de mettre en évidence les différents phénotypes de résistance.

L'usage abusif des antibiotiques exerce une pression sur les micro-organismes, qui développent de la résistance par plusieurs mécanismes. L'évolution des résistances, comprenant l'apparition incessante de mécanismes nouveaux et la complexité des phénotypes de multirésistance, exige la mise au point rapide de nouveaux outils diagnostiques. Le développement de nouvelles stratégies, et la découverte de cibles nouvelles constituent une nécessité évidente. L'implémentation de mesures sensibles pour réduire les risques d'acquisition d'infections nosocomiales et la conduite des traitements sur des bases microbiologiques et pharmacologiques plus solides doivent constituer des priorités.

On conclusion, un taux élevé de BLSE nous incite à revoir notre politique d'usage des antibiotiques et revoir les mesures d'hygiène.

➤ Références bibliographiques

- 1- C.-E. Lemaoui , H. Layaida , A. Badi , N. Foudi . Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Journal des Anti-infectieux*, 2017, 2 :1-8
- 2- Inserm (institut national de la santé et la recherche médicale) dossier réalisé en collaboration avec Jean-Luc Mainardi, unité 1138 Inserm/Sorbonne. 2017. Consulté 30/03/2018 <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/resistance-antibiotiques>
- 3- Hélène Soubelet et Guillaume Morel. Antibiorésistance et environnement. février 2017. ministère de l'environnement, de l'énergie et de la mer, en charge des relations internationales sur le climat. [théma.santе.france](http://theма.santе.france).
- 4- MUYLAERT A., MAINIL J.G. Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét.*, 2012, **156**, 109- 123
- 5- LALAOUI RACHIDI S. Profil bactériologique des pneumopathies nosocomiales de l'adulte et état de résistance aux antibiotiques. Thèse doctorat en médecine, université Cadi Ayyad Marrakech, 2016, 117p
- 6- LOZNIEWSKI A., RABAUD C., Nancy. résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins. *CCLIN Sud-Est*. Juillet 2010.1 :1-4
- 7- ALEKSHUN M.N., LEVY S.B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 2007, **128**, 1037-1050.
- 8- GUARDABASSI L., COURVALIN P. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In: Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press: Washington, 2006, 1-18.
- 9- NIKAIDO H. Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.*, 2009, **78**, 119-146.
- 10- KUMAR A., SCHWEIZER H.P. Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2005, **57**, 1486-1513.
- 11- POOLE K. Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2001, **4**, 500-508.
- 12- LI X.Z., NIKAIDO H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 2004, **64**, 159-204.
- 13- ROBICSEK A., JACOBY G.A., HOOPER D.C. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect. Dis.* , 2006a, **6**, 629-640

- 14-** CAVACO L.M., HASMAN H., XIA S., AARESTRUP F.M. qnrD, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* sérovar Kentucky and *Bovismorbificans* strains of human origin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, **53**, 603-608.
- 15-** WANG M., GUO Q., XU X., WANG X., YE X., WU S., HOOPER D.C. New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, **53**, 1892-1897.
- 16-** RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., VELASCO C., BRIALES A., GARCIA I., CONEJO M.C., PASCUAL A. Qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, **61**, 1240-1243.
- 17-** SINGLETON P. bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. Dunod, paris, 2005.
- 18-** RUPPE E. Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M, *Antibiotiques* (2010) 12, 3-16.
- 19-** BOYER CHAMMARD T. lutte contre les bactéries multi-résistantes en ville : état des lieux et moyens mis en œuvre après une hospitalisation. thèse de doctorat en médecine. université paris diderot - paris 7, 2013, 97p
- 20-** GANGOUE PIEBOJI J. caractérisation des bêta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. thèse de doctorat ès science en biochimie. Liège université, 2007, 127p
- 21-** S. VORA, R. AUCKENTHALER. Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique ?. *Rev Med Suisse* 2009 ; 5 : 1991-4
- 22-** GISKE CG, SUNDSFJORD AS, KAHLMETER G, WOODFORD N, NORDMANN P, PATERSON DL, et al. Redefining extended-spectrum betalactamases: balancing science and clinical need. *J AntimicrobChemother* 2009;63:1-4.
- 23-** BUSH K, JACOBY GA, AMICOSANTE G, BONOMO RA, BRADFORD P, CORNAGLIA G, et al. Comment on: Redefining extended-spectrum beta-lactamases: balancing science and clinical need. *J AntimicrobChemother* 2009; 64:13-5.
- 24-** NORDMANN.P, POIREL.L, “Emerging Carbapenemases in Gram-negative Aerobes,”*Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (June 2002); 86: 321–331.
- 25-** POIREL. L, PITOUT. J D, and NORDMANN. P, “Carbapenemases:Molecular Diversity and Clinical Consequences,” *Future Microbiology* (October 2007); 25: 501–512.

- 26- QUENTIN. C et al., "Antibiotic Resistance Rates and Phenotypes among Isolates of Enterobacteriaceae in French Extra-hospital Practice," *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* (2004); 23: 185–193.
- 27- ARPIN. C et al., "Nationwide Survey of Extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in the French Community Setting," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2009); 63: 1205–1214.
- 28- LIVERMORE. D. M, β -lactamase mediated resistance: past present and future. *J. infect. Dis. Soc.* 1995. 6: 75-83.
- 29- MATAGNE. A, LAMOTTE-BRASSEUR. J & FRERE J-M. Catalytic properties of class A β -lactamases: efficiency and diversity. *biochem. J*, 1998. 330: 581-598.
- 30- PATERSON DL, BONOMO RA. Extended-spectrum beta-lactamases: A clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:657-686.
- 31- COURVALIN. P, LECLERCQ. R, BINGEN. E, *Antibiogramme*. Paris, ESKA, 2006.
- 32- FIGUEIREDO S. *Acinetobacter* spp. Et réservoir de gènes de carbapénèmases. Thèse de doctorat en médecine. Université paris-sud 11, 2011, 207 p.
- 33- AMBLER, R. P. 1980. The structure of B-lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 289:321-31.
- 34- BUSH, K., G. A. JACOBY, AND A. A. MEDEIROS. 1995. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:1211-1233.
- 35- PHILIPPON, A., G. ARLET, AND G. A. JACOBY. 2002. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1-11.
- 36- ONERBA. 2005. Base de données interactives des réseaux.
<http://www.onerba.org/bin/res/>.
- 37- NEUWIRTH, C., E. SIEBOR, J. M. DUEZ, A. PECHINOT, AND A. KAZMIERCZAK. 1995. Imipenem resistance in clinical isolates of *Proteus mirabilis* associated with alterations in penicillin-binding proteins. *J. Antimicrob. Chemother.* 36:335-342.
- 38- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2004. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Approved standard M100-S14., Wayne, Pa.
- 39- Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué 2006. <http://www.sfm.asso.fr>

- 40-** TZELEPI, E., P. GIAKKOUI, D. SOFIANOU, V. LOUKOVA, A. KEMEROGLOU, AND A. TSAKRIS. 2000. Detection of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. *J. Clin. Microbiol.* 38:542-546.
- 41-** LIVERMORE, D. M., M. STRUELENS, J. AMORIM, F. BAQUERO, J. BILLE, R. CANTON, S. HENNING, S. GATERMANN, A. MARCHESE, H. MITTERMAYER, C. NONHOFF, K. J. OAKTON, F. PRAPLAN, H. RAMOS, G. C. SCHITO, J. V. VAN ELDERE, J. VERHAEGEN, J. VERHOEF, AND M. R. VISSER. 2002. Multicentre evaluation of the VITEK 2 advanced expert system for interpretive reading of antimicrobial resistance tests. *J. Antimicrob. Chemother.* 49:289-300.
- 42-** SANGUINETTI, M., B. POSTERARO, T. SPANU, D. CICCAGLIONE, L. ROMANO, B. FIORI, G. NICOLETTI, S. ZANETTI, AND G. FADDA. 2003. Characterization of clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Italy by the BD Phoenix extended-spectrum β -lactamase detection method. *J. Clin. Microbiol.* 41:1463-1468.
- 43-** LINSOTT, A. J., AND W. J. BROWN. 2005. Evaluation of four commercial available extended-spectrum β -lactamase phenotypic confirmation tests. *J. Clin. Microbiol.* 43:1081-1085.
- 44-** SANDERS, C. C., M. PEYRET, E. S. MOLAND, C. SHUBERT, K. S. THOMSON, J.-M. BOEUFGRAS, AND W. E. SANDERS. 2000. Ability of the VITEK 2 advanced expert system to identify β -lactam phenotypes in isolates of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Clin. Microbiol.* 38:570-574.
- 45-** STÜRENBURG, E., M. LANG, M. A. HORSTKOTTE, R. LAUFS, AND D. MACK. 2004. Evaluation of the MicroScan ESBL plus confirmation panel for detection of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of oxyimino-cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 54:870-875.
- 46-** CHANAL, C., R. BONNET, C. DE CHAMPS, D. SIROT, R. LABIA, AND J. SIROT. 2000. Prevalence of β -lactamases among 1,072 clinical strains of *Proteus mirabilis*: a 2-year survey in a French hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:1930-1935.
- 47-** THIOLAS, A., C. BORNET, A. DAVIN-REGLI, J. M. PAGES, AND C. BOLLET. 2004. Resistance to imipenem, cefepime, and ceftazidime associated with mutation in Omp36 osmoporin of *Enterobacter aerogenes*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 317:851-856.
- 48-** NORDMANN, P., AND L. POIREL. 2002. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin. Microbiol. Infect.* 8:321-331.

- 49-** WELDHAGEN, G. F., L. POIREL, AND I. NORDMANN. 2003. Ambler class A extended-spectrum β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47:2385-2389.
- 50-** POIREL, L. L. BRINAS, A. VERLINDE, L. IDE, AND P. NORDMANN. 2005. DEL-1, a novel clavulanic acid-inhibited extended-spectrum β -lactamase, and the class 1 integron In/20 in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:3743-3748.
- 51-** NAAS, T., AND P. NORDMANN. 1999. OXA-type β -lactamases. *Curr. Pharm. Design* 5:865-879.
- 52-** BONFIGLIO, G., Y. LAKSAI, N. FRANCESCHINI, M. PERILLI, B. SEGATORE, C. BIANCHI, S. STEFANI, G. AMICOSANTE, AND G. NICOLETTI. 1998. In vitro activity of piperacillin/tazobactam against 615 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in intensive care units. *Chemother.* 44:305-312.
- 53-** NAAS, T., AND P. NORDMANN. 1999. OXA-type β -lactamases. *Curr. Pharm. Design* 5:865-879.
- 54-** THOMSON, J. M. AND R. A. BONOMO. 2005. The threat of antibiotic resistance in Gram-negative pathogens: β -lactams in peril. *Curr. Opin. Microbiol.* 8:1-7.
- 55-** WALSH, T. R., M. A. TOLEMAN, L. POIREL, AND P. NORDMANN. 2005. Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *Clin. Microbiol. Rev.* 18:306-325.
- 56-** POIREL, L., O. MENUTEAU, N. AGOLI, C. CATTOEN, AND P. NORDMANN. 2003. Outbreak of extended-spectrum β -lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. *J. Clin. Microbiol.* 41:3542-3547.
- 57-** NAGANO, N., Y. NAGANO, C. CORDEVANT, N. SHIBATA, AND Y. ARAKAWA. 2004. Nosocomial transmission of CTX-M2 β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ward. *J. Clin. Microbiol.* 42:3978-3984.
- 58-** DIOMAN, S. A. épidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi au CHU du point G. Thèse de doctorat **Pharmacie**. Université de Bamako, 2008, 61 p.
- 59-** BEN ABDALLAH, H., NOOMEN, S., BEN ELHADJ, KHÉLIFA, A., SAHNOUN, O., ELARGOUBI, A., MASTOUR, M., Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans la région de Monastir. *Médecine et maladies infectieuses*. 2008. 38(10): 554-556.
- 60-** Sirot, D. L., F. W. Goldstein, C. J. Soussy, A. L. Courtieu, M. O. Husson, J. Lemozy, M. Meyran, C. Morel, R. Perez, C. Quentin-Noury, M.E. Reverdy, J.M. Scheftel, M.

Rozenbaum, and Y. Rezvani. Resistance to cefotaxime and seven other β -lactams in members of the family Enterobacteriaceae: a 3-year survey in France. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992. 36:1677-1681.

61- CECILE OKALLA EBONGUE, MARTIAL DONGMO TSIAZOK, JEAN PIERRE NDA MEFO'O, GUY PASCAL NGABA, GERARD BEYIHA, DIEUDONNE ADIOGO. Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *Pan African Medical Journal.* 2015. 11 : 2-5

62- CHERKAOUI A. EMONET S. RENZI G. RIAT A. GREUB G. SCHRENZEL J. Bêtalactamases à spectre étendu et carbapénémases chez les Enterobacteriaceae. *Rev Med Suisse* 2014 ; 10 : 2142-8

63- ONERBA (Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques). France. Rapport annuel 2013-2014. 148, 1-152

64- AARN (Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques) 16^{ème} Rapport d'évaluation 2015. publier 2017.85-96.

ANNEXE 1

Questionnaire :

I. Information sur Patients :

1. Nom : prénom :

2. Age : Adulte Enfant

3. sexe : Homme Femme

4. Service hospitalier :

Services Chirurgie Services de médecine Services d'urgence Services d'enfant

5. Type de prélèvement :

Urine Hémoculture LCR Coproculture

Prélèvements des infections respiratoires ORL Pus

II. Quelle espèce bactérienne ? :

Escherichia coli *Klebsiella pneumoniae* *Enterobacter cloacae*

Serratia marcescens *Proteus mirabilis* *Salmonella spp.*

Acinetobacter spp. *Pseudomonas aeruginosa*

III. De quels antibiotiques la bactérie résiste ? :

AMP / AMX : Ampicilline/Amoxicilline AMC : Amoxicilline+acide clavulanique

CZO : Cefazoline FOX : Cefoxitine CTX / CRO : Cefotaxime/ceftriaxone

CAZ : Céftazidime ATM : Aztréonam IPM : Imipènème

ERT : Imipènème GEN : Gentamicine AMK : Amikacine

CHL : Chloramphénicol NIT : Nitrofuranes NAL : Acide nalidixique

ANNEXE 1

CIP : Ciprofloxacine COL (CMI) : Colistine SXT : Cotrimoxazole

FOS: Fosfomycine TIC: Ticarcilline PIP: Piperacilline

TOB:Tobramicine NET : Netilmicine LVX : Lévofloxacine

TCC : Ticarcilline + Acide clavulanique

IV. Les BMR :

Entérobactéries BLSE

Acinetobacter baumannii BLSE

Pseudomonas aeruginosa BLSE

Fiche de renseignement du laboratoire Année 2017

Nom de la structure : CHU BENBADIS

Adresse : CHU BENBADIS CONSTANTINE

Nom du laboratoire : Laboratoire de Microbiologie

Nombre de services cliniques dans la structure : 32

Nombre de lits d'hospitalisation dans la structure : 1485

Nombre d'hospitalisations par an en moyenne : 75000

Liste des services cliniques :

SERVICES DE Médecine 20

Médecine interne

Maladies infectieuses

Neurologie

Hématologie

Cardiologie

Pneumologie

Rhumatologie

Oncologie médicale

Radiothérapie médicale

Néonatalogie

Dermatologie

ANNEXES 2

PédiatrieA

Pédiatrie B

Endocrinologie

Gastro-Entérologie

Réanimation médicale

Urgences médicales

Réanimation des brûlés

Médecine nucléaire

Unité Pénitenciaire

SERVICES DE Chirurgie 12

Chirurgie générale A

Chirurgie générale B

Orthopédie Traumato A

Orthopédie Traumato B

Chirurgie thoracique

Ophtalmologie

ORL

Maxillo- Facial

Chirurgie Plastique

Urgences Chirurgicales

Anesthésie Réanimation

Gynéco-Obstétrique

ANNEXE 3

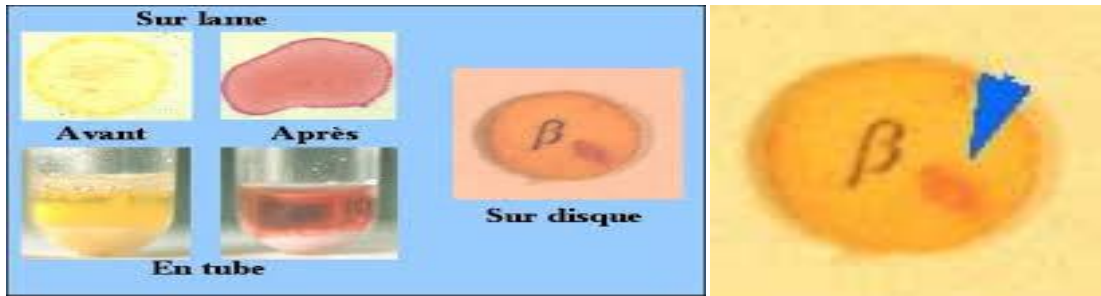


Figure 11 : Test céfinaseur sur lame, tube et disque

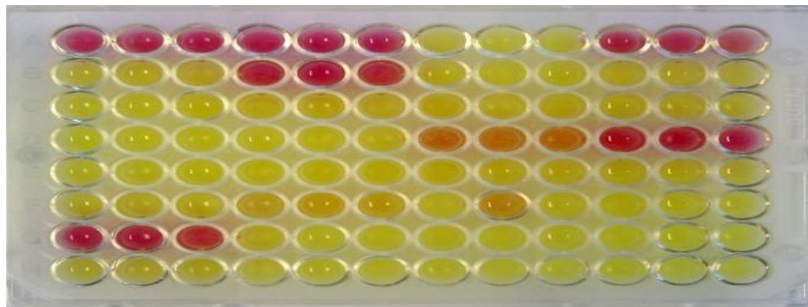


Figure 12 : Test céfinase sur plaque

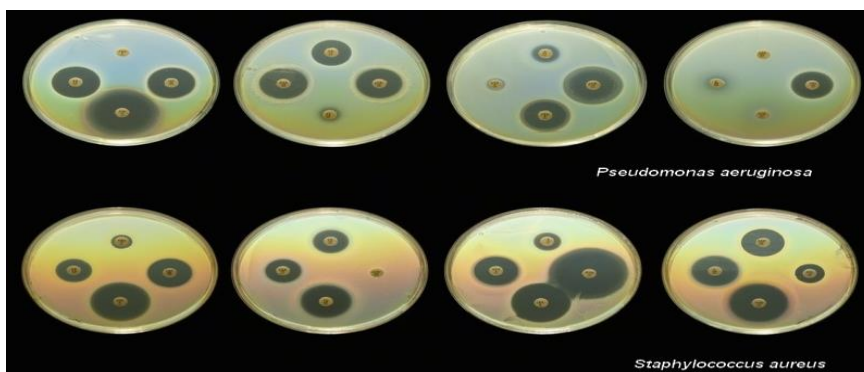
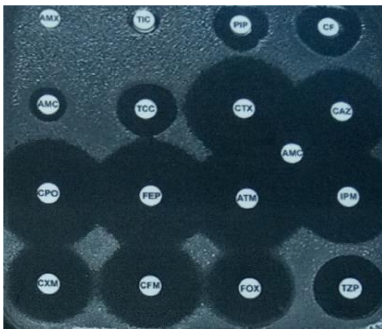


Figure 13 : test de diffusion



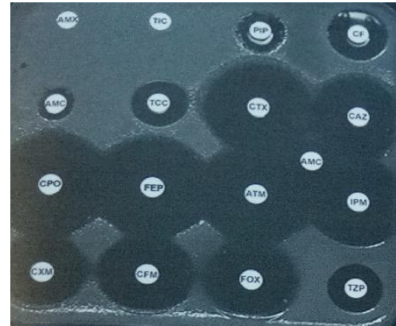
Figure 14 : Les automates

ANNEXE 3



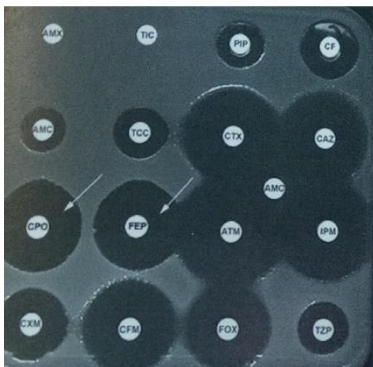
a: Phénotype “ pénicillinase acquise”

de haut niveau chez E.coli produisant TEM-2



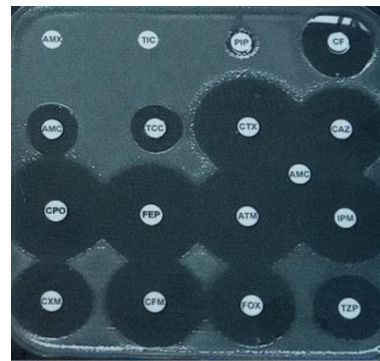
b : Phénotype “ pénicillinase résistantes

aux inhibiteurs chez E.coli produisant TRI-2



c : Phénotype “ pénicillinase résistantes”

aux inhibiteurs chez E.coli produisant OXA-1



d : Phénotype “ pénicillinase résistantes

aux inhibiteurs chez S.Typhimurium produisant CARB-2

figure 15 : Antibiogrammes d'entérobactéries résistantes à l'association amoxicilline-clavulanate. La flèche indique la réduction du diamètre d'inhibition induite par OXA-1 pour C4G. AMC, amoxicilline-clavulanate ; AMX, amoxicilline ; CAZ, ceftazidine ; CF, céfalotine ; CFM, céfixime ; CPO, ceftiofime ; CTX, céfotaxime ; CXM, céfuroxime ; FEP, céfépime ; FOX, céfoxitine ; IPM, imipénème ; PIP, pipéracilline ; TCC, ticarcilline-clavulanate ; TIC, ticarcilline ; TZP, pipéracilline-tazobactam.

ANNEXE 3

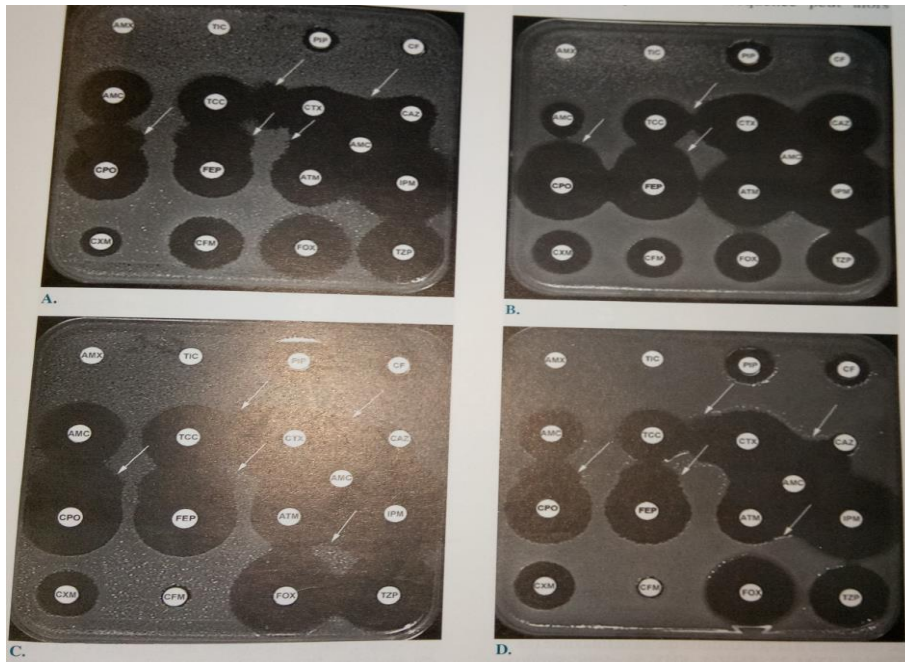


Figure 16 : Antibiogramme de E.coli produisant les b-lactamases à spectre élargi.

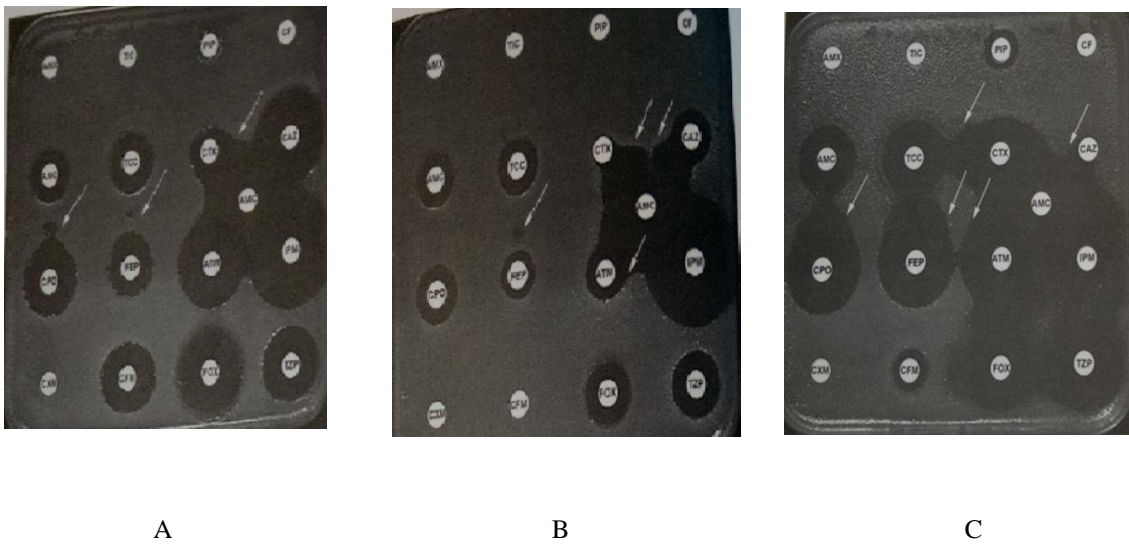
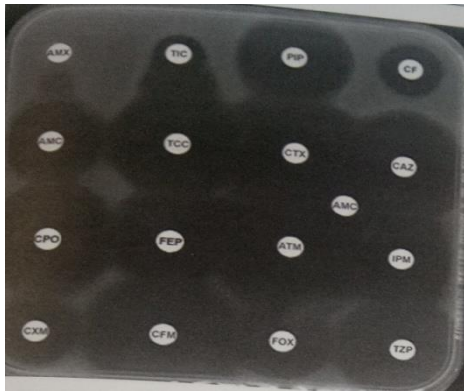
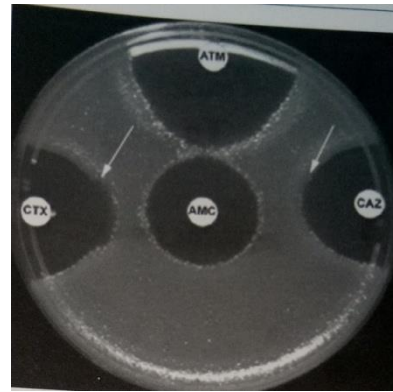


Figure 17 : Antibiogramme de E.coli produisant des B-lactamases à spectre élargi

ANNEXE 3



A



B



C

Figure 18 :B-lactamase à spectre élargi de détection difficile .

A, antibogramme comprenant des tests de synergie négatifs réalisés selon la méthode de double disque avec des distances inter-disque de 2 à 3 cm ;

B, test de synergie positif (flèches) réalisés selon la même méthode avec distance de 4 cm ;

C, test de synergie réalisé selon la méthode de disque combinés.).

ANNEXE 3

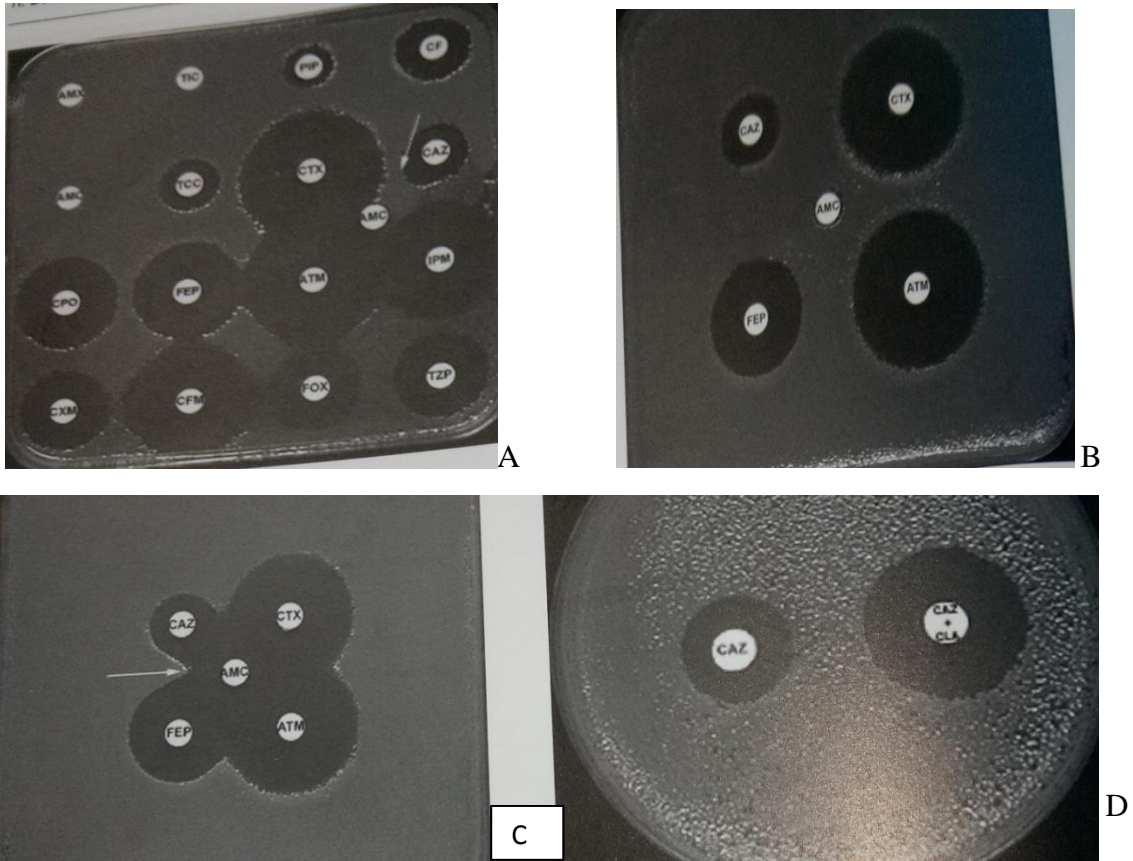


Figure 19 : B-lactamase à spectre élargi de type CMT chez *E. coli* .A, Antibiogramme révélant une discrète image de synergie (flèche) entre un disque contenant du clavulanate et un disque de ceftazidime placés à 2 cm ; B, test de synergie négatif réalisé selon la méthode des doubles disques avec un un espace inter-disque de 3 cm ; C, test de synergie discrètement positif (flèche) réalisé selon la méthode des doubles disques avec un espace inter-disque de 2 cm ; D, test de synergie positif réalisé selon la méthode des disques combinés.

ANNEXE 3

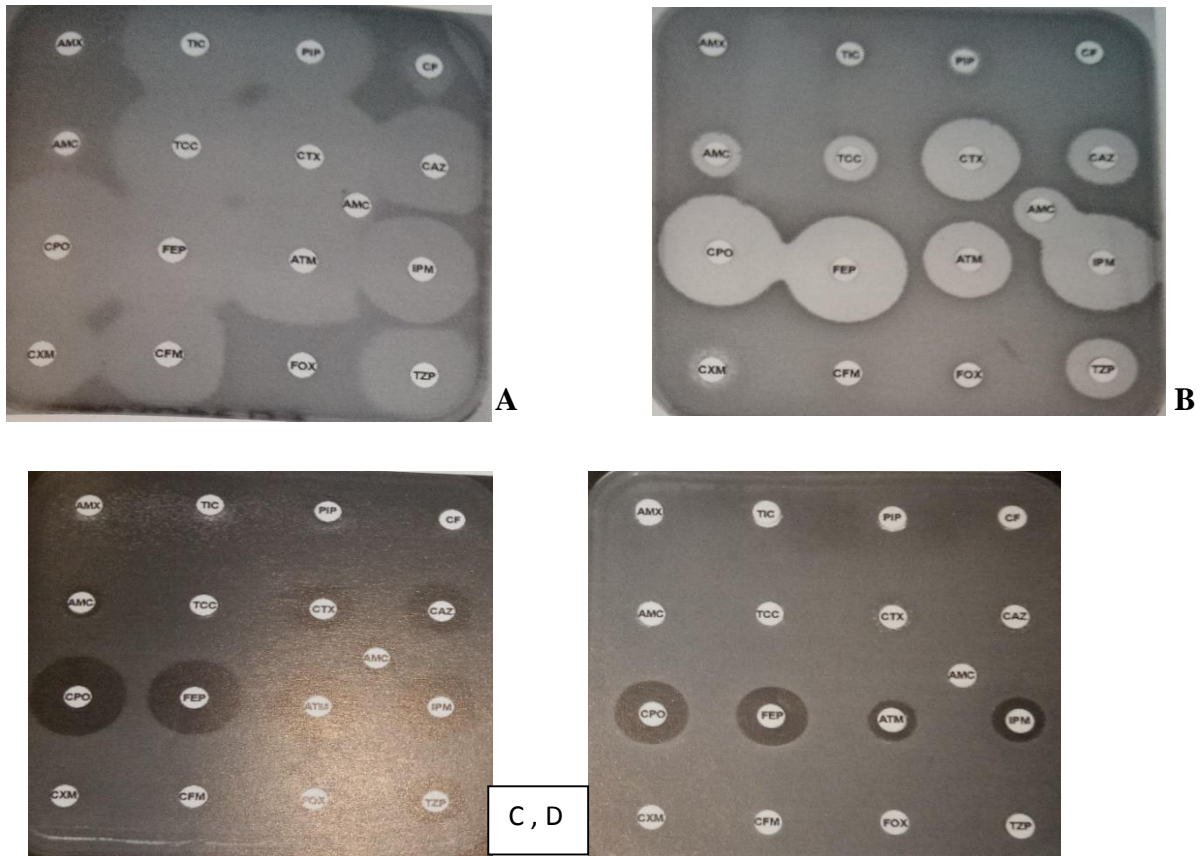


Figure 20 : *E.aerogenes* "sauvage" (A), hyperproducteur d'AmpC (persistance du caractère inductible liée à une dérépression partielle de l'expression du gène *ampC*) (B), de sensibilité diminuée ou (C) résistant (D) à l'imipénème et aux céphalosporine de 4^{ème} génération par l'association d'imperméabilité et d'hyperproduction d'AmpC.

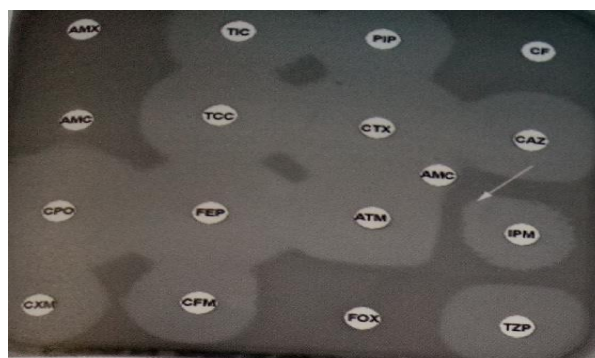


Figure 21 : *E.aerogenes* produisant NMC-A, une carbapénémase chromosomique de classe A. la flèche montre une image discrète de synergie entre le disque d'imipénème (IMP) et un disque contenant du clavulanate (AMC).

ANNEXE 3

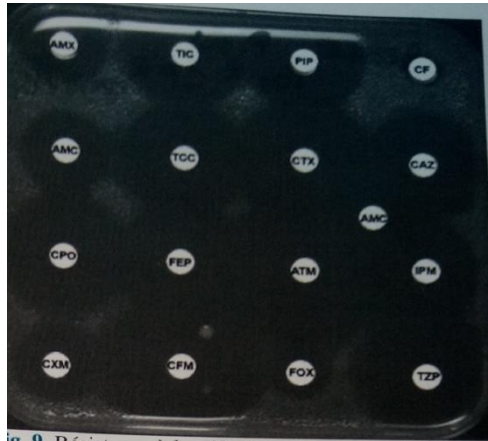
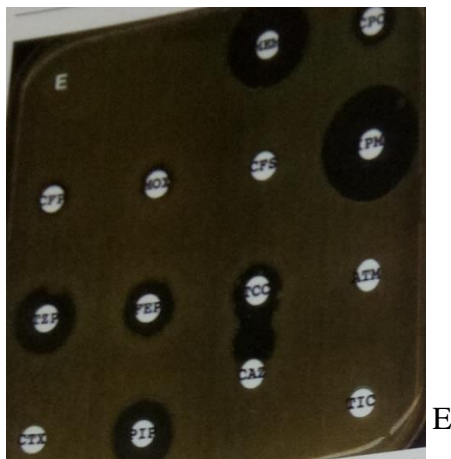


Figure 22: Résistance au la céfotaxine , au céfuroxime et à la céfalotine par imperméabilité chez E.coli.



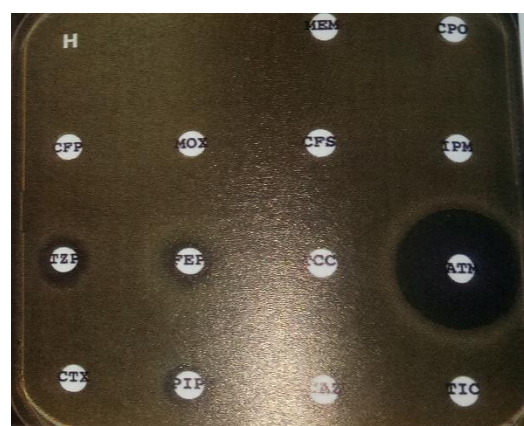
E



F



G



H

Figure 23 : B-lactamines et phénotypes de résistance habituels aux B-lactamines : (E), *P.aeruginosa* RNL-1.phénotype B-lactamase à spectre étendu PER-1 ;(F), *P.aeruginosa* 15.phénotype B-lactamase à spectre étendu VEB-1 ;(G), *P.aeruginosa* CY-1 phénotype oxacillinase à spectre étendu OXA-32 ;(H), *P.aeruginosa* COL-1 phénotype metallo-B-lactamase de type VIM-2.

ANNEXE 3

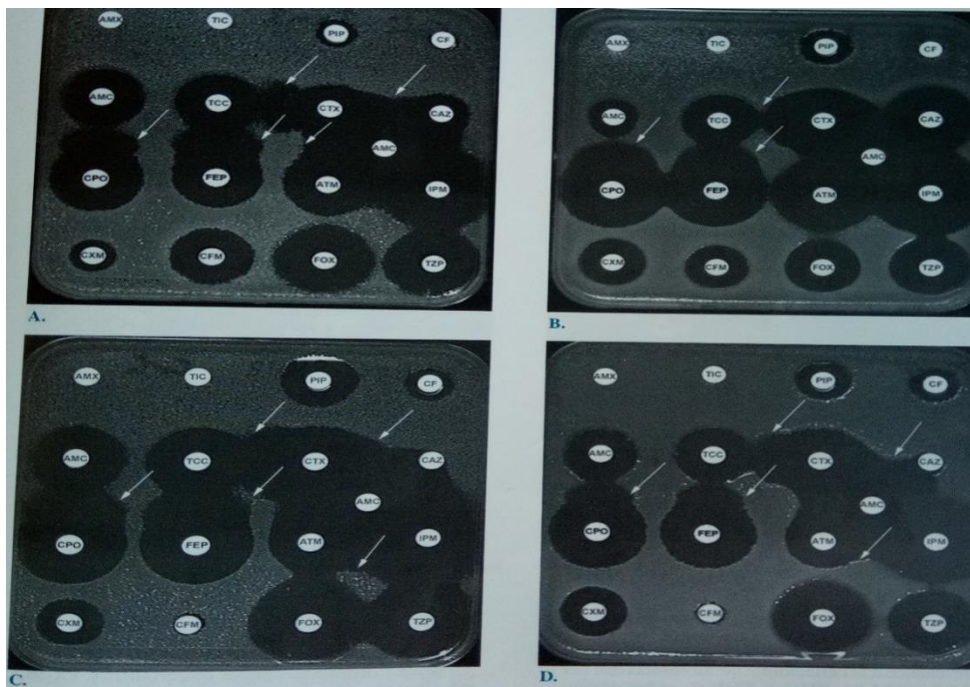


Figure 24 : AntibioGramme de *E.coli* produisant les B-lactamases à spectre élargi (cefotaximases) TEM-3 (A) et SHV-2 (B) et (ceftazidimases) TEM-24 (C) et SHV-12 (D).

Résumé :

Cette étude vise à déterminer le profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* isolées au CHU de Constantine durant l'année 2017. Notre étude est rétrospective, portant sur l'ensemble des souches d'entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* isolées à partir d'hémocultures, d'urines, d'LCR, prélèvement des infection respiratoire, coproculture chez les malades externes et hospitalisés. Les prélèvements ont été analysés au laboratoire de bactériologie de CHU de Constantine. Les résultats trouvés montrent que les *Acinetobacter baumannii* étaient les germes hautement résistants sur l'ensemble des souches isolées suivi par les entérobactéries. Nous avons noté la présence d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp, et *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. Pendant la période d'étude, nous avons observé des taux de résistance élevés aux principales classes d'antibiotiques ; Ampicilline/Amoxicilline, Cefazoline, Cotrimoxazole, Acide nalidixique, Amikacine, Piperacilline. Ces résultats sont valable pour tout les aspects de profil de résistance que nous avons étudié ; profil de résistance aux antibiotiques par germe et par molécule, profil de résistance des bactéries isolées par type de service hospitalier et profil de résistance des bactéries isolées par type de prélèvement. Cette étude nous a permis d'avoir une idée sur les taux de résistance aux antibiotiques des principales bactéries impliquées dans les infections, d'où l'importance d'une action de sensibilisation au bon usage des antibiotiques couplée à une surveillance afin de maîtriser la diffusion de ces résistances.

Les mots clés :

Antibiorésistance, BLSE, entérobactérie, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*

Abstract

This study aims to determine the antibiotic resistance profile of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* isolated at Constantine University Hospital in the year 2017. Our study is retrospective, covering all strains of *enterobacteria*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* isolated from haemocultures, urine, CSF, removal of respiratory infection, stool culture in outpatients and hospitalized patients. The samples were analyzed in the bacteriology laboratory of CHU Constantine. The results found show that *Acinetobacter baumannii* were highly resistant organisms on all isolated strains followed by *Enterobacteriaceae*. We noted the presence of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella spp.*, And *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* During the study period, we observed high levels of resistance to the main classes of antibiotics; Ampicillin / Amoxicillin, Cefazolin, Cotrimoxazole, Nalidixic acid, Amikacin, Piperacillin. These results are valid for all aspects of the resistance profile that we studied; antibiotic resistance profile by germ and molecule, resistance profile of bacteria isolated by type of hospital service and resistance profile of bacteria isolated by type of sample.

This study gave us an idea of the antibiotic resistance rates of the main bacteria involved in infections, hence the importance of raising awareness of the proper use of antibiotics and monitoring to control the spread of these resistances.

Keywords :

Antibiotic resistance, EBLs, *enterobacteria*, *Acinetobacter spp.* *Pseudomonas aeruginosa*

الملخص :

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد خصائص مقاومة المضادات الحيوية من طرف البكتيريا المعوية، *Pseudomonas aeruginosa*، *Acinetobacter baumannii* المعزولة في المستشفى جامعي لمدينة قسنطينة في عام 2017. دراستنا هي بأثر رجعي، وتغطي جميع سلالات من البكتيريا المعوية، *Pseudomonas aeruginosa*، *Acinetobacter baumannii* المعزولة من الوسط الدم، البول، السائل النخاعي، عينات من مناطق الالتهابات التنفسية، مستخرجات البراز لدى المرضى خارج و داخل المستشفى. تم تحليل العينات في مختبر البكتيريا بالمستشفى الجامعي قسنطينة. تظهر النتائج التي تم العثور عليها أن *Acinetobacter baumannii* كانت أكثر البكتيريا مقاومة مقارنة مع جميع السلالات المعزولة تليها البكتيريا المعوية. و لقد لاحظنا وجود عدة بكتيريا في الوسط الاستشفائي منها : *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae*، *Enterobacter cloacae*، *Serratiamarcescens*، *Proteus mirabilis*، *Salmonella* spp, et *Pseudomonasaeruginosa*, *Acinetobacter* spp. خلال فترة الدراسة، لاحظنا مستويات عالية من مقاومة هذه الأخيرة للفئات الرئيسية للمضادات الحيوية. الأمبيسيلين / أموكسيسيلين، سيفازولين، كوتريموكسازول، حمض ناليديكسيك، أميكاسين، بيبيراسيلين. هذه النتائج صالحة لجميع جوانب ملف تعريف المقاومة التي درسناها ؛ البيانات الخاصة لمقاومة المضادات الحيوية بواسطة جرثومة و جزيئات ، البيانات الخاصة لمقاومة البكتيريا المعزولة حسب نوع اقسام المستشفى والبيانات الخاصة لمقاومة البكتيريا المعزولة بنوع العينة.

أعطتنا هذه الدراسة فكرة عن معدلات مقاومة المضادات الحيوية من طرف البكتيريا الرئيسية التي تشارك في الالتهابات ، ومن هنا جاءت أهمية زيادة الوعي بالاستخدام السليم للمضادات الحيوية والرصد للسيطرة على المرض و انتشار هذه المقاومة.

الكلمات المفتاحية

المقاومة بالمضادات الحيوية، BLSE، بكتريا المعوية، *Pseudomonas aeruginosa*، *Acinetobacter baumannii*

Nom et Prénom : Haouachi Racha

Date de soutenance : 28/06/2018

Thème : Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à gram négatif productrices de Beta-Lactamase à spectre étendu ou élargi au niveau du CHU-Benbadis Constantine

Résumé :

Cette étude vise à déterminer le profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* isolées au CHU de Constantine durant l'année 2017. Notre étude est rétrospective, portant sur l'ensemble des souches d'entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* isolées à partir d'hémocultures, d'urines, d'LCR, prélèvement des infection respiratoire, coproculture chez les malades externes et hospitalisés. Les prélèvements ont été analysés au laboratoire de bactériologie de CHU de Constantine. Les résultats trouvés montrent que les *Acinetobacter baumannii* étaient les germes hautement résistants sur l'ensemble des souches isolées suivi par les entérobactéries. Nous avons noté la présence d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp, et *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. Pendant la période d'étude, nous avons observé des taux de résistance élevés aux principales classes d'antibiotiques ; Ampicilline/Amoxicilline, Cefazoline, Cotrimoxazole, Acide nalidixique, Amikacine, Piperacilline. Ces résultats sont valable pour tout les aspects de profil de résistance que nous avons étudié ; profil de résistance aux antibiotiques par germe et par molécule, profil de résistance des bactéries isolées par type de service hospitalier et profil de résistance des bactéries isolées par type de prélèvement.

Cette étude nous a permis d'avoir une idée sur les taux de résistance aux antibiotiques des principales bactéries impliquées dans les infections, d'où l'importance d'une action de sensibilisation au bon usage des antibiotiques couplée à une surveillance afin de maîtriser la diffusion de ces résistances.

Mots clés :

Antibiorésistance, BLSE, entérobactérie, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*

Laboratoire de :

- Microbiologie au niveau du CHU- Benbadis, Constantine.

Président de jury :

Dr.MAAMERI. Z

Rapporteur :

Dr. Mosbah. A

Examinatrice :

Dr.BELLIL. I

Maitre de stage :

Dr. BENTCHOUALA. CH