



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكرو بيولوجيا.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des microorganismes

Intitulé :

Caractérisation des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi isolées à l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC)

Présenté et soutenu par : *ARIBI Maroua*

Le : 10/07/2019

BAZIZ Maya

Jury d'évaluation :

Président du jury : *BOUZERAIB Latifa* (Maître assistante A - UFM Constantine).

Rapporteur : *SAKHRI-A Nedjouda* (Maître de conférences A - UFM Constantine).

Examineurs : *MEZIANI Meriem* (Maître assistante A - UFM Constantine).

Co-encadreur : *MEZIANI Ahmed Amine* (Maître assistant en microbiologie - HMRUC).

*Année universitaire
2018 - 2019*

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier notre encadreur, Mme Sakhri-Arafa Nedjouda, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses précieux conseils et sa disponibilité tout au long de ce travail.

En second lieu, nous tenons à remercier Monsieur MEZIANI, médecin commandant à l'HMURC ainsi que monsieur KHMISSI, médecin colonel à l'HMURC pour nous avoir fait bénéficier de leur expérience et de leurs précieux conseils.

Nous tenons également à adresser nos sincères remerciements à Mme BOUZERAIB Latifa et Mme MEZIANI Meriem. Nous sommes immensément touchés par l'insigne honneur que vous nous faites en acceptant de siéger parmi les membres du jury de notre mémoire. Veuillez trouver à travers ce modeste travail l'expression de notre admiration et nos sincères remerciements.

Merci à tout le personnel du laboratoire et aux responsables de l'hôpital militaire de Constantine.

A tous nos professeurs qui nous ont imbibés de leur savoir et leur passion.

A nos familles, pour leur soutien tout au long des années.

A nos amis sans citer de nom.

A tous ceux qui nous ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Résumé

Les bactéries multirésistantes (BMR) représentent un problème de santé publique mondial, majoré par la pression de sélection bactérienne imposée par la prescription toujours croissante d'antibiotiques. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (E-BLSE) sont aujourd'hui les BMR majoritaires. Le but de ce travail était d'identifier et de caractériser les entérobactéries productrices de BLSE isolées chez les patients hospitalisés et externes au niveau de l'HMURC et d'établir leur profil de résistance aux antibiotiques. Il s'agit d'une étude prospective allant de mars à mai 2019 et d'une étude rétrospective d'un an (2018) basée sur l'interprétation des résultats des antibiogrammes et des dossiers médicaux des archives de l'unité microbiologie-parasitologie. L'identification des bactéries a été faite sur la base des caractères morphologiques, culturels et biochimiques, la sensibilité des souches a été étudiée par la méthode des disques préconisée par le CLSI. 751 souches d'entérobactéries sont isolées de divers prélèvements pathologiques chez 666 patients hospitalisés et externes. Dans cette étude, L'incidence de souches d'entérobactéries productrices de BLSE était de 35%, et parmi les espèces identifiées, on a trouvé majoritairement *Klebsiella pneumoniae* avec une fréquence 43% suivi par *Escherichia coli* avec 40%. Les E-BLSE isolées dans notre étude sont majoritairement d'origine hospitalière avec un taux de 90% et proviennent essentiellement de pus et des prélèvements urinaires avec une fréquence de 45%. Notre étude confirme l'importance croissante des résistances rencontrées chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases au niveau de HMRUC dont le niveau de résistance est absolu (100%) vis-à-vis des bêta-lactamines utilisées. L'imipénème et l'amikacine conservent une excellente activité vis-à-vis ces E-BLSE. Au terme de cette étude nous rappelons les recommandations d'hygiène individuelle et collective et l'utilisation rationnelle des antibiotiques pour éviter l'émergence de nouvelles résistances.

Mots clés : entérobactéries, résistance aux antibiotiques, sensibilité, bêta-lactamases à spectre élargi.

Abstract

Multidrug-resistant bacteria (MDR) are a global public health problem, compounded by the bacterial selection pressure imposed by the ever-increasing prescription of antibiotics. *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) are now the majority of BMR. The aim of this study was to identify and characterize *Enterobacteriaceae* producing BLSEs isolated from inpatients and outpatients at the HUMRC level and to establish their antibiotic resistance profile. This is a prospective study from March to May 2019 and a retrospective study of one year (2018) based on the interpretation of the results of the antibiograms and medical records from the microbiology-parasitology unit. The identification of bacteria was made on the basis of morphological, cultural and biochemical. Susceptibility was studied by the disc method preconized by the CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute). 751 strains of enterobacteria were isolated from various pathological specimens in 666 inpatients and outpatients. In this study, the incidence of ESBL producing enterobacteria strains was 35%, the main bacterial species are *Klebsiella pneumoniae* (43%) and *Escherichia coli* (40%), the ESBL isolated in this study are mainly from urinary and pus samples (45%) and inpatients (90%). Our study confirms the growing importance of the resistance encountered in enterobacteria at HMRUC. Strains resistant to antibiotic show that the level of resistance is absolute (100%) for beta-lactam antibiotics used and relatively high for the association Sulfamethoxazole /trimethoprim (SXT) and nalidixic acid (NA). Imipenem and amikacin remain excellence activity for these enterobacteria producing ESBL. After this study we review recommendation of individual and collective hygiene especially as enterobacteria are bacteria naturally present in human digestive tract and the rational use of antibiotics to prevent emergence of new resistance.

Key words: enterobacteria, antibiotic resistance, susceptibility, extended spectrum beta-lactamases.

ملخص

البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة تشكل خطر على الصحة العامة العالمية، التي تترأسها خاصية الإنتقاء البكتيري الناتجة من جزاء الوصف المتزايد للمضادات الحيوية. البكتيريا المعوية المفترزة للبيتاكتماز ذات الطيف الموسع تعتبر حاليا من أكثر البكتيريا متعددة المقاومة. إنَّ الهدف من هذا البحث هو عزل وتحديد نوع البكتيريا المعوية المفترزة للبيتاكتماز ذات الطيف الموسع المعزولة من مرضى المستشفى العسكري الجامعي الجهوي بقسنطينة داخليا وخارجيا ودراسة ردة فعلها اتجاه المضادات الحيوية. هذه دراسة وتطبيقية لمدة ثلاثة أشهر من مارس الى ماي 2019 ودراسة بأثر رجعي لمدة سنة (2018) على أساس تفسير نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحساسية والسجلات الطبية من وحدة علم الأحياء الدقيقة -الطفليات. التعرف على هذه البكتيريا تم على أساس الخصائص المورفولوجية والبيوكيميائية، تمت دراسة حساسية هذه السلالات اتجاه للمضادات الحيوية باستعمال الأقراص المعتمدة من قبل CLSI لقد تم عزل 751 سلالة من البكتيريا المعوية من مختلف العينات المرضية ل 666 مريض من داخل المستشفى وخارجه، نسبة السلالات المفترزة للبيتاكتماز هي 35% من بينها *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* هما الأنواع الأكثر تعرفا عليها بنسبة 43% و40% على التوالي، البكتيريا المعوية ومعظم السلالات المفترزة للبيتاكتماز معزولة عند المرضى المقيمين بالمستشفى بنسبة 90%، وخاصة من عينات البول والقيح بنسبة 45%. تم حساب معدل الإصابة، معظم المرضى كانوا من الذكور 64% و36% من النساء. دراستنا تؤكد على أهمية المقاومة المتزايدة للبكتيريا المعوية المفترزة للبيتاكتماز ذات الطيف الواسع على مستوى م ع ج ق قنين أن مستوى مقاومة هذه البكتيريا تام (100%) اتجاه البيتاكتام ومقاومة مرتفعة نسبيا اتجاه سولفاميكسازول/تريميتوبريم وحمض الناليديكسيك. اما الاميبينام والاميكاسين فقد احتفظا بفعالية ممتازة اتجاه هذه البكتيريا. بعد هذه الدراسة، نستعرض بعض التوصيات منها النظافة الفردية والجماعية وخاصة أن البكتيريا المعوية هي البكتيريا الموجودة طبيعيا في الجهاز الهضمي البشري، كما نأكد على الإستخدام العقلاني للمضادات الحيوية لمنع ظهور أنواع جديدة مقاومة لهذه المضادات.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا المعوية، مقاومة المضادات الحيوية، الحساسية، بيتاكتماز ذات الطيف الموسع.

Liste des abréviations

AAC : Aminosides N-acétyltransférases.

ADH : Arginine déshydrogénase.

AME : Enzymes modifiant les aminosides

APH : Aminosides O-phosphotransférases.

API20E : Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries).

BLSE : Bêta-lactamase à spectre élargi.

C1G : Céphalosporine de première génération.

C2G : Céphalosporine de deuxième génération.

C3G : Céphalosporines de troisième génération.

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

CLED : Cystine Lactose Electrolyte Déficient.

CLSI : Clinical and laboratory standards Institute.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CTX-M : Céfoximase-Munich.

E-BLSE : Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi.

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines.

EDTA : Acide Ethylène-Diamine-Tétraacétique.

EUCAST : European committee for antibiotic susceptibility

GN : Gélose nutritive.

HMRUC : Hôpital militaire régionale universitaire de Constantine.

LCR : Liquide céphalorachidien.

LDC : Lysine décarboxylase.

MH : Muller Hinton.

ODC : Ornithine décarboxylase.

PLP : Protéines liant les pénicillines

PMQR : Plasmid Mediated Quinolone Resistance

SHV : Sulfhydryl variable.

SNC : Système nerveux central.

spp. : Espèces.

TDA : Tryptophane désaminase.

TEM : Temoniera : nom du malade chez qui la première souche a été isolée.

URE : Urée.

VP : Réaction de Voges-Proskauer.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification moléculaire et fonctionnelle des bêta-lactamases	12
Tableau 2 : Présentation des phénotypes de résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines	13
Tableau 3 : Caractères macroscopiques des colonies des souches d'entérobactéries.....	25
Tableau 4 : Répartition des souches E-BLSE selon le sexe.....	39
Tableau 5 : Répartition des souches E-BLSE selon l'origine	39
Tableau 6 : Répartition des souches d'E-BLSE selon le type de prélèvement	39

Liste des figures

Figure 1 : Mode d'action des antibiotiques.....	5
Figure 2 : structure chimique des principales bêta-lactamines.....	6
Figure 3 : principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	10
Figure 4 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle bêta-lactame.....	11
Figure 6 : Observation macroscopique des colonies d' <i>Escherichia coli</i> sur gélose nutritive .	26
Figure 5 : Observation macroscopique des colonies d' <i>Escherichia coli</i> sur milieu Hektoen .	26
Figure 7 : Observation macroscopique des colonies de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur milieu CLED	26
Figure 8 : Observation microscopique à l'état frais	26
Figure 9 : Observation microscopique après coloration de Gram (bacilles à Gram négatif) ..	27
Figure 10 : Caractères biochimiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> par la galerie API 20E après incubation	27
Figure 11 : Caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i> par la galerie API 20E après incubation	28
Figure 12 : Caractères biochimiques de la bactérie <i>Escherichia coli</i> par la galerie RAPID™ ONE.....	28
Figure 13 : Caractères biochimiques de la bactérie par <i>Klebsiella pneumoniae</i> la galerie RAPID™ ONE.....	28
Figure 14 : Test d'oxydase négatif.....	29
Figure 15 : Test de catalase positif (+)	29
Figure 16 : Antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i>	29
Figure 17 : Test de synergie positif d' <i>Escherichia coli</i>	30
Figure 18 : Test espagnol positif d' <i>Escherichia coli</i>	30
Figure 19 : Distribution des souches d'entérobactéries selon l'espèce	31
Figure 20 : Répartition des souches d'entérobactéries selon l'origine	31
Figure 21 : Répartition des souches d'entérobactéries en fonction du sexe	32
Figure 22 : Répartition des souches d'entérobactéries selon les services.....	32
Figure 23 : Répartition des souches d'entérobactéries selon le type de prélèvement.....	33
Figure 24 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries globales isolées	34
Figure 25 : Profil de résistance des souches d'entérobactéries isolées chez les patients hospitalisés	34

Figure 26 : profil de résistance des entérobactéries isolées chez les patients externes	35
Figure 27 : Profil de résistance des souches d' <i>Escherichia coli</i> isolées	36
Figure 28 : profil de résistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées.....	36
Figure 29 : Profil de résistance des souches de <i>Proteus spp.</i> isolées	37
Figure 30 : Distribution des souches d'entérobactéries isolées selon le phénotype de résistance aux bêta-lactamines	37
Figure 31 : Résistances associées aux phénotypes de résistance aux bêta-lactamines.....	38
Figure 32 : Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon l'espèce	38
Figure 33 : Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon les services.....	40
Figure 34 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries BLSE (+)...	41
Figure 35 : Profil de résistance et de sensibilité de <i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE (+).....	41
Figure 36 : Profil de résistance et de sensibilité d' <i>Escherichia coli</i> BLSE (+).....	42
Figure 37 : Profil de résistance et de sensibilité d' <i>Enterobacter spp.</i> BLSE (+)	43
Figure 38 : Profil de résistance et de sensibilité de <i>Proteus spp.</i> BLSE (+)	43
Figure 39 : Profil de résistance et de sensibilité de <i>Citrobacter spp.</i> BLSE (+)	44
Figure 40 : Profil de résistance et de sensibilité de <i>Serratia spp.</i> BLSE (+).....	45
Figure 41 : Profil de résistance et de sensibilité de <i>Morganella morganii</i> BLSE (+).....	45
Figure 42 : profil de résistance des souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées chez les patients externes	46
Figure 43 : profil de résistance des souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées chez les patients hospitalisés	47

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Généralités sur les entérobactéries	3
1. Définition et caractéristiques générales	3
2. Etudes de quelques genres et espèces particuliers :	3
2.1. <i>Escherichia coli</i>	3
2.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> :	4
2.3. <i>Enterobacter cloacae</i>	4
2.4. <i>Citrobacter freundii</i>	4
Chapitre II : les antibiotiques	5
1. Définition des antibiotiques	5
2. Principales familles des antibiotiques actifs sur les entérobactéries et leur mode d'action	6
2.1. Les bêta-lactamines	6
2.2. Les aminosides	7
2.3. Les quinolones	7
3. La résistance aux antibiotiques	8
3.1. Notion de résistance bactérienne	8
3.2. Types de résistance	8
3.3. Résistance des entérobactéries aux aminosides	8
3.4. Résistance des entérobactéries aux Quinolones	9
3.5. Résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines	9
Chapitre III : Résistance par les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE)	11
1. Mécanisme de résistance par les bêta-lactamases	11
2. Les bêta-lactamases à spectre élargi	13
3. Les différents types de BLSE	13
4. Détection des BLSE	15
4.1. Techniques microbiologiques	15
4.1.1. Le test de double synergie	15
4.1.4. La méthode proposée par le CLSI	15
4.1.4. Test de Hodge modifié	16
Matériel et méthodes	17
1. Matériel	17

1.1.	Centre et durée de l'étude.....	17
1.2.	Recueil des données	17
2.	Méthodes :.....	18
2.1.	Examen macroscopique (direct).....	18
2.2.	Culture et isolement.....	18
2.3.	Examen microscopique	19
2.4.	Identification biochimique pour entérobactéries	19
2.4.1.	La galerie RapID™ ONE Panel	19
2.4.2.	Galerie API 20E	20
2.4.3.	Tests complémentaires	21
2.5.	Sensibilité aux antibiotiques.....	22
2.6.	Recherche de la bêta-lactamase à spectre élargi.....	23
2.6.1.	Test de synergie.....	23
2.6.2.	Test du double disque (test espagnol)	23
	Résultats	25
1.	Isolement et identification bactérienne	25
1.1.	Résultats de l'identification macroscopique.....	25
1.2.	Résultats de l'identification microscopique	26
1.3.	Identification biochimique des souches.....	27
1.4.	Résultats de l'antibiogramme	29
1.5.	Résultats du test de synergie.....	29
1.6.	Résultat du test de double disque (test espagnol).....	30
2.	Distribution globale des souches d'entérobactéries isolées	31
2.1.	Distribution des souches d'entérobactéries selon l'espèce.....	31
2.2.	Distribution d'entérobactéries selon l'origine	31
2.3.	Distribution des souches d'entérobactéries en fonction de sexe	32
2.4.	Distribution des souches d'entérobactéries selon les services	32
2.5.	Distribution des souches d'entérobactéries selon le type de prélèvement	33
3.	Profil de résistance globale aux antibiotiques des souches d'entérobactéries	33
3.1.	Profil de résistance des souches d'entérobactéries isolées selon l'origine.....	34
3.2.	Profil de résistance des souches d' <i>Escherichia coli</i> isolées	35
3.3.	Profil de résistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées.....	36
3.4.	Profil de résistance des souches de <i>Proteus spp.</i> isolées.....	37

4.	Distribution des souches d'entérobactéries selon le phénotype de résistance aux bêta-lactamines.....	37
5.	Principaux phénotypes de résistance aux bêta-lactamines et résistances associées	38
6.	Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+).....	38
6.1.	Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon l'espèce	38
6.2.	Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon le sexe	39
6.3.	Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon l'origine	39
6.4.	Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon le type de prélèvement... ..	39
6.5.	Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon le service.....	40
7.	Profil de résistance globale aux antibiotiques des souches d'entérobactéries BLSE (+) 40	
7.1.	Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE (+)	41
7.2.	Profil de résistance d' <i>Escherichia coli</i> BLSE (+)	42
7.3.	Profil de résistance d' <i>Enterobacter spp.</i> BLSE (+).....	42
7.4.	Profil de résistance de <i>Proteus spp.</i> BLSE (+).....	43
7.5.	Profil de résistance de <i>Citrobacter spp.</i> BLSE (+).....	44
7.6.	Profil de résistance de <i>Serratia spp.</i> BLSE (+)	44
7.7.	Profil de résistance de <i>Morganella morganii</i> BLSE (+)	45
8.	Profil de résistance des souches d'entérobactéries productrices de BLSE selon l'origine	46
	Discussion :	48
	Conclusion et perspectives.....	56
	Références bibliographiques	58

INTRODUCTION

Introduction

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries à Gram négatif retrouvées partout dans le sol, dans l'eau et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux, elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces qui sont les causes les plus fréquentes de plusieurs maladies épidémiques et pandémiques (**Chanoine, 2012**). Elles sont souvent responsables d'infections urinaires, pulmonaires, de septicémies mais également d'autres infections intra-abdominales (**Paterson, 2006**).

Depuis leur découverte en 1928, Les antibiotiques ont permis de faire considérablement reculer la mortalité associée aux maladies infectieuses au cours du 20e siècle.

Cependant, le monde microbien a rapidement fait la preuve de son immense aptitude à évoluer, et les bactéries ont acquis de nombreux types de mécanismes de résistance. En effet, l'émergence de la résistance bactérienne a débuté dès les premières années d'utilisation de la pénicilline G (*Staphylococcus aureus* producteur de pénicillinases) (**Lagha, 2015**).

Sur les 17 classes actuelles d'antibiotiques, pour chacun d'entre eux existe au moins un mécanisme de résistance (**Battraud, 2017**).

Dans le cas des bacilles à Gram négatif, la résistance bactérienne aux bêta-lactamines est due principalement à la production d'enzymes (bêta-lactamases) capables d'hydrolyser l'anneau bêta-lactame commun à cette classe d'antibiotiques (pénicillines, céphalosporines, monobactams, carbapénèmes. La répartition de ces enzymes est aujourd'hui mondiale (**Giani et al., 2017 ; Ruppé, 2010**).

Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) qui dérivent des pénicillinases déjà connues (TEM-1 TEM-2, SHV-1) par substitution d'un ou de plusieurs acides aminés qui leur permet d'hydrolyser les oxyimino-bêta- lactamines et les monobactames (**Bush, 2013 ; Bonomo, 2016**).

Les infections causées par les souches productrices de BLSE sont associées à une morbidité et une mortalité élevée, à une prolongation de la durée de l'hospitalisation et à une augmentation des coûts d'hospitalisation (**Chanoine, 2012 ; Doit et al., 2010**). Les souches résistantes aux bêta-lactamines sont souvent résistantes aux autres familles d'antibiotiques laissant le champ thérapeutique très réduit (**Sekhri-Arafa, 2011**).

Le but de cette étude menée au niveau de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (**HMRUC**) sur une durée de trois mois est d'une part isoler et identifier des bactéries de la famille des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) à partir de différents prélèvements pathologiques (urines, pus et autres), provenant de patients hospitalisés et externes et d'une part d'évaluer le profil de résistance aux antibiotiques les plus communément utilisés.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur les entérobactéries

1. Définition et caractéristiques générales

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries Gram-négatif, qui sont à l'origine de maladies de gravité très variable, en raison de mécanismes pathogéniques distincts.

Cette famille est hétérogène car elle se compose d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces. Cependant, tous ces germes ont en commun leur localisation préférentielle au niveau du système digestif, certains faisant d'ailleurs partie de la flore normale, bien qu'ils soient également présents dans l'environnement (Ndiaye, 2005 ; Khayar, 2011).

Plusieurs processus métaboliques caractérisent cette famille bactérienne. Il s'agit notamment de la capacité de réduire les nitrates en nitrites (en vue de générer de l'énergie), de fermenter le glucose, de ne pas avoir de cytochrome-oxydase, d'être aérobies ou anaérobies, mobiles ou immobiles (Madigan et Martinko, 2007).

Dans le cadre de notre étude, les entérobactéries incriminées sont : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*. Pour cela, il semble nécessaire de rappeler brièvement quelques caractéristiques générales de ces bactéries et les types d'infections qu'elles génèrent.

2. Etudes de quelques genres et espèces particuliers :

2.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, isolée par Escherich en 1885, est l'espèce type du genre *Escherichia* qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*.

Plusieurs caractères biochimiques permettent de distinguer *Escherichia coli* vis à vis les autres entérobactéries, notamment : la fermentation du lactose, la production d'une bêta-galactosidase, la production d'indole à partir du tryptophane, l'absence d'uréase et l'absence d'utilisation de citrate comme source d'énergie et de carbone (Bidet et Bingen, 2011).

Escherichia coli cause principalement des infections du tractus digestif, la plus connue étant la diarrhée du voyageur, elle est également la bactérie préférentielle des infections urinaires (Diallo, 2013).

2.2. *Klebsiella pneumoniae* :

Les espèces du genre *Klebsiella* sont des bactéries possédant toutes les caractéristiques des *Enterobacteriaceae* en forme de bâtonnet et font partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Elles se distinguent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles, et leur volumineuse capsule d'aspect muqueux, qui est assez typique de ce genre (Najiby, 2012 ; Sekhri-Arafa, 2011).

Ces bactéries produisent de la lysine-décarboxylase, mais pas d'ornithine-décarboxylase (ODC), et donnent en général un résultat positif au test de Voges-Proskauer (VP).

Les caractères négatifs importants sont : l'absence d'uréase, de bêta-glucuronidase, l'incapacité de produire le sulfure d'hydrogène (H₂S) (Sekhri-Arafa, 2011).

Klebsiella pneumoniae est un agent classique et majeur d'infections nosocomiales (Sekhri-Arafa, 2011).

2.3. *Enterobacter cloacae*

Enterobacter Cloacae (anciennement appelée *Aerobacter cloacae*, *Cloaca A*) est l'espèce type du genre *Enterobacter* caractérisé par sa mobilité assurée par un flagelle péritriche.

Elle se distingue par une réaction positive au test de VP ainsi que la production d'ODC et parfois de l'arginine dihydrolase (ADH).

Cependant, elle donne des résultats négatifs aux tests de tryptophane désaminase (TDA), d'H₂S, d'indole et d'uréase (Avril *et al.*, 1992).

2.4. *Citrobacter freundii*

C'est un agent pathogène opportuniste qui peut provoquer des infections du système nerveux central (SNC), des infections des voies urinaires et des bactériémies (Liu *et al.*, 2018).

C. freundii se caractérise par sa mobilité, la fermentation du glucose avec production de gaz, la production du citrate, la bêta-galactosidase et l'H₂S.

Elle donne un résultat négatif au test de Voges-Proskauer, de TDA, d'indole et d'uréase (Avril *et al.*, 1992).

Chapitre II : les antibiotiques

1. Définition des antibiotiques

Le mot antibiotique a été proposé en 1941 par Waksman, désignant des substances, produites par un micro-organisme, et qui agissent à faible dose pour inhiber la croissance des micro-organismes ou pour les détruire (Courvalin *et al.*, 2001). Aujourd'hui, le terme s'est élargi pour regrouper les molécules obtenues par synthèse et hémisynthèse.

Un mode d'action spécifique caractérise les antibiotiques, qui leur confère une toxicité sélective (Mangin, 2016) en perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries cibles (synthèse protéique, synthèse des acides nucléiques, réplication, transcription, transport transmembranaire...) comme le montre la figure 1 ci-dessous.

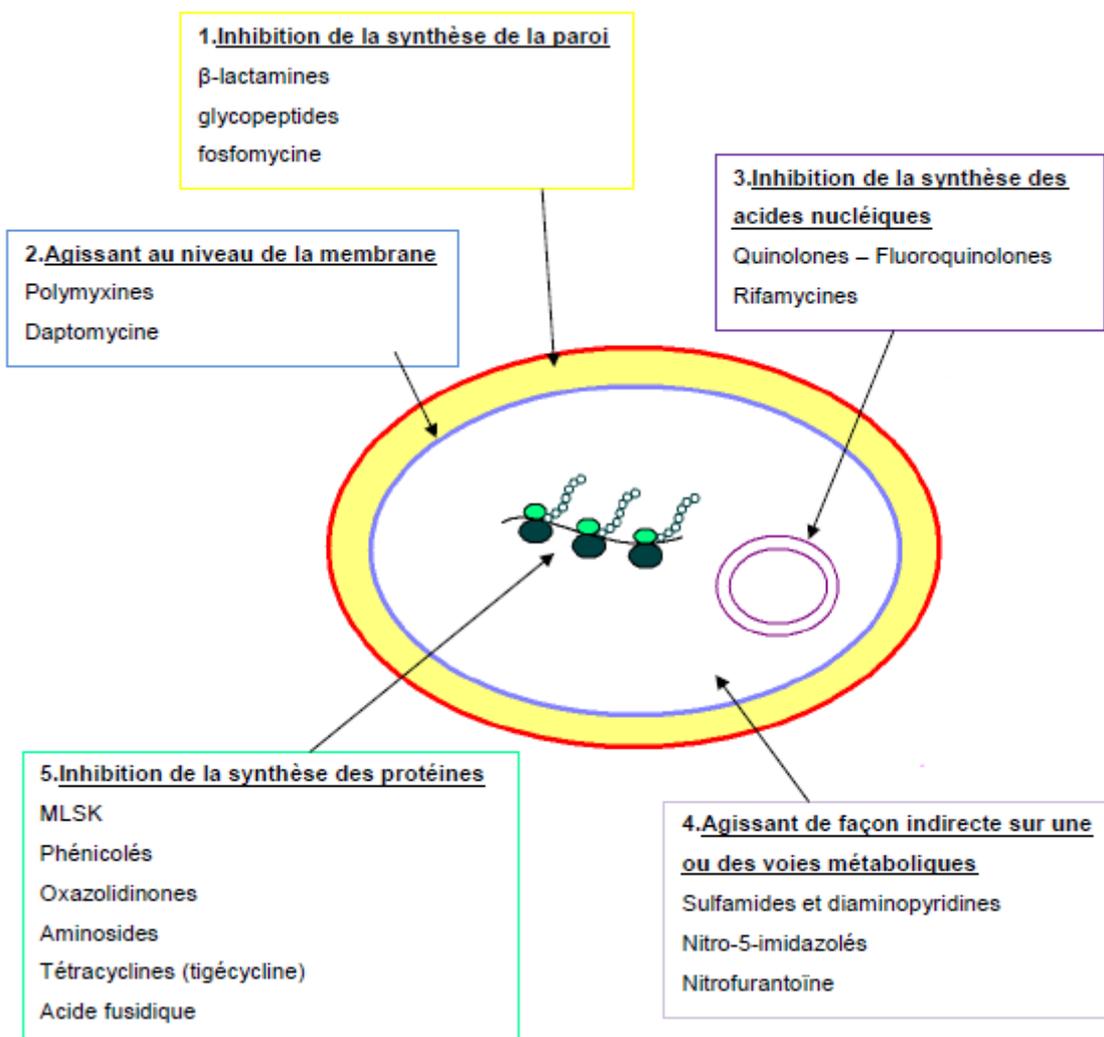


Figure 1 : Mode d'action des antibiotiques (Grare, 2009)

2. Principales familles des antibiotiques actifs sur les entérobactéries et leur mode d'action

2.1. Les bêta-lactamines

Les bêta-lactamines sont les antibiotiques de première ligne dans le traitement des infections bactériennes en raison de leur large spectre d'activité bactéricide, leur faible toxicité ainsi que les vastes molécules disponibles. (Robin *et al.*, 2012).

Elles sont actives sur des bactéries en phase de croissance et agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne (synthèse Du peptidoglycane) par inactivation des principales enzymes impliquées dans cette construction : Les PLP (protéines liant les pénicillines) (Ndir, 2015).

Il existe de nombreuses variétés de bêta-lactamines ayant toutes en commun le noyau bêta-lactame (qui est la partie efficace de la molécule) (Vasseur, 2014).

La famille des bêta-lactamines comprend 4 principaux groupes : les pénicillines les céphalosporines les monobactames et les carbapénèmes (voir figure 2).

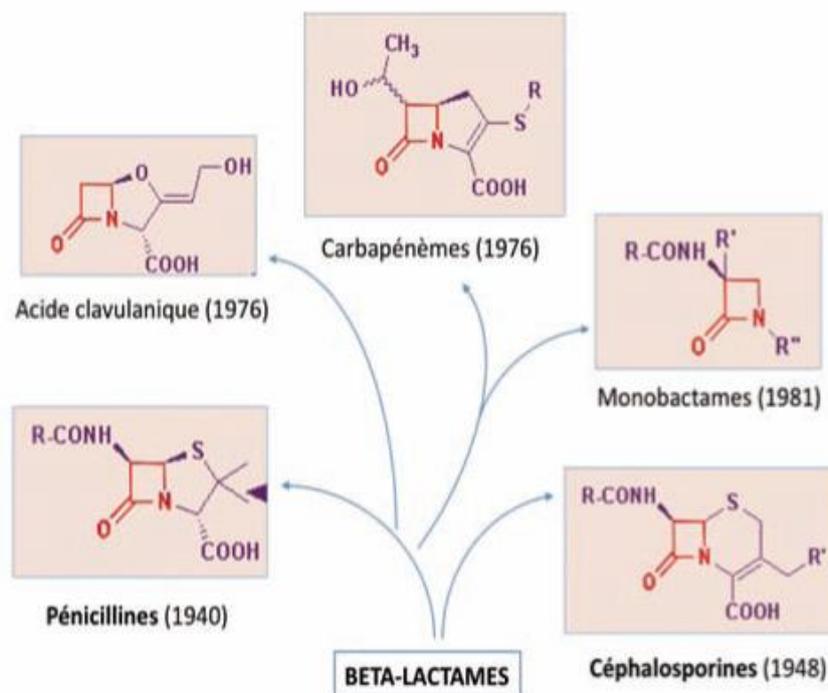


Figure 2: structure chimique des principales bêta-lactamines (Comte *et al.*, 2012)

- **Mode d'action**

Les bêta-lactamines agissent en se fixant sur des enzymes présents dans la synthèse de la paroi bactérienne.

Le cycle bêta-lactame se lie de manière covalente et irréversible au site actif de l'enzyme provoquant son inactivation. Il entraîne une interruption de la synthèse du peptidoglycane et une production subséquente d'enzymes autolytiques entraînant la mort cellulaire. De ce fait, les bêta-lactamines possèdent une activité bactéricide (**Kohanski *et al.*, 2007**).

2.2. Les aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides. Ils perturbent la synthèse protéique au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne (**Krause *et al.*, 2016**).

Ils sont utilisés en thérapeutique depuis la découverte de la streptomycine en 1944 (**Germovsek *et al.*, 2016**). Ils sont le plus souvent utilisés en association avec les bêta-lactamines ou les fluoroquinolones pour leur effet synergique (**Doi et Arakawa, 2007**).

2.3. Les quinolones

Ce sont des antibiotiques synthétiques, bactéricides très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Ils sont caractérisés par un large spectre d'activité, une bonne biodisponibilité orale et une bonne diffusion dans les tissus (**Hooper et Rubinstein, 2003**).

Les quinolones inhibent les Topoisomérase de type II (Gyrase) et IV empêchant leur action dans le déroulement harmonieux de l'ADN qui est nécessaire à sa répllication (**Aldred *et al.*, 2014**).

Les quinolones sont classées en générations en fonction de leur spectre d'activité et de leur date de mise sur le marché (**Cattoir, 2012**).

Les quinolones de première génération : comprennent des molécules à spectre étroit, utilisées dans le traitement des infections urinaires dues aux entérobactéries (**Andriole, 2005**). Exemples : acide nalidixique, acide oxolinique, acide pipémidique.

Les quinolones de deuxième génération ou fluoroquinolones, principalement la ciprofloxacine et l'ofloxacine, sont plus actives que celles de la première génération (**Mitscher, 2005**).

3. La résistance aux antibiotiques

3.1. Notion de résistance bactérienne

L'antibiorésistance est la capacité d'adaptation d'une bactérie dans un milieu contenant des concentrations élevées des agents chimiques néfastes pour elle (**Diallo, 2013**).

3.2. Types de résistance

- **Résistance naturelle**

La résistance naturelle est un caractère stable, transmis à la descendance, et qui est dû à la présence de gènes chromosomiques, commun à toutes les souches de la même espèce, (**Ozniewski et Rabaud, 2010 ; Sekhri-Arafa, 2011**).

Ce caractère détermine les phénotypes sauvages des espèces bactériennes vis-à-vis des antibiotiques (**Mayer *et al.*, 2000**).

- **Résistance acquise**

La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, on parle de transfert horizontal de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation.

Aujourd'hui, apparaissent de véritables « monstres » bactériens résistants à tous les antibiotiques potentiellement actifs (**Carle, 2009 ; El Abdani, 2016**).

- **Résistance croisée et Co-résistance**

La résistance à un antibiotique peut, parfois, conférer de la résistance à un autre antibiotique.

La résistance croisée résulte d'un seul mécanisme biochimique et concerne des antibiotiques appartenant à la même famille.

La Co-résistance est liée à plusieurs mécanismes (plusieurs gènes de résistance impliqués) et concerne des antibiotiques appartenant à différentes familles (**Carle, 2009 ; Sekhri-Arafa, 2011**).

3.3. Résistance des entérobactéries aux aminosides

La modification enzymatique de l'antibiotique est le mécanisme de résistance aux aminosides le plus fréquemment observé chez les entérobactéries (**Shakil *et al.*, 2008**).

Le déterminisme génétique est souvent plasmidique (**Perichon *et al.*, 2007**).

Trois familles d'enzymes modifiant les aminosides (AME) ont été décrites et classées en fonction de la réaction qu'elles catalysent : acétylation d'un groupement aminé (AAC : aminosides N-acétyltransférases), phosphorylation (APH : aminosides O-phosphotransférases) ou nucléotidylation (ANT : aminosides O-nucléotidyltransférases) d'un groupement hydroxyle (**Lambert, 2006**).

3.4. Résistance des entérobactéries aux Quinolones

Depuis leur mise sur le marché, l'incidence de la résistance aux quinolones ne cesse de croître chez les entérobactéries. Cette résistance fait intervenir différents mécanismes chromosomiques et plasmidiques (**Cattoir, 2012**).

La résistance chromosomique aux quinolones chez les entérobactéries résulte essentiellement de la diminution de la perméabilité membranaire et des modifications de la cible (gène *gyrA*, *gyrB* ou *parC*) (**Sekhri-Arafa, 2011**).

Il existe depuis 1998 des plasmides de résistance aux quinolones, où Martinez-Martinez et ses collaborateurs ont décrit pour la première fois une souche de *Klebsiella pneumoniae* dont le support de la résistance aux quinolones est un plasmide transférable (**PMQR** « Plasmid Mediated Quinolone Resistance ») (**Martinez-Martinez et al., 1998**).

Le déterminant génétique de cette résistance est le gène « *qnr* » qui, depuis, a été identifiés chez différentes espèces d'entérobactéries et sont souvent associés à la production de bêta-lactamases à spectre élargi (**Guessennd et al., 2008**).

3.5. Résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines

Les bêta-lactamines peuvent perdre leur efficacité du fait de l'apparition d'une résistance bactérienne.

Ces résistances sont liées à un défaut d'accumulation au contact de la cible (les PLP ou protéines liant les pénicillines) suite à une imperméabilité ou un efflux de l'antibiotique, à des modifications des PLP ou à la production d'enzymes inactivatrices appelées bêta-lactamases (**Courvalin et Bingen, 2006**) (voir figure 3).

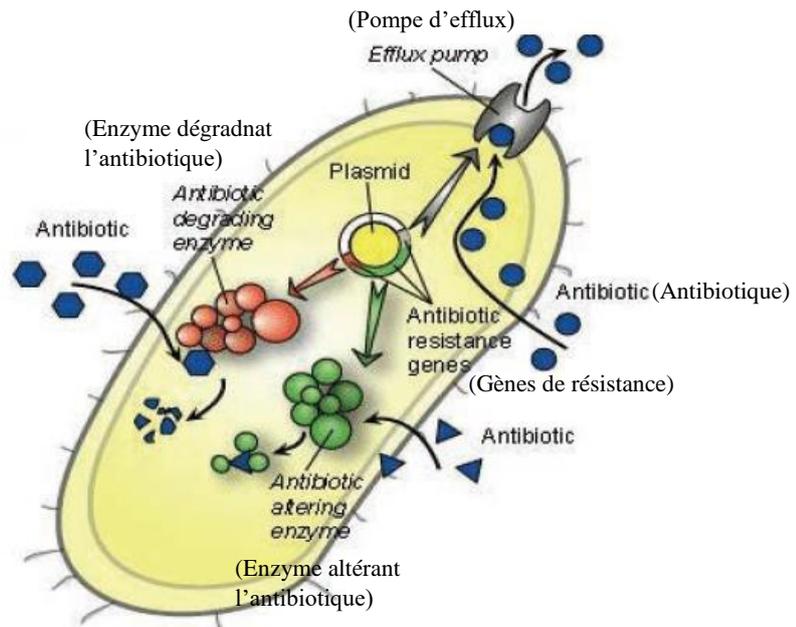


Figure 3 : principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Molton *et al.*, 2013)

Chapitre III : Résistance par les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE)

1. Mécanisme de résistance par les bêta-lactamases

Les bêta-lactamases sont des enzymes hydrolysant les bêta-lactamines en ouvrant le cycle bêta-lactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique en question (voir figure 4).

Chez les entérobactéries, les bêta-lactamases sont exportés dans l'espace périplasmique (Gangoue-pieboji, 2007).

A l'heure actuelle, plus de 500 bêta-lactamases différentes ont été répertoriées (Babic et al., 2006).

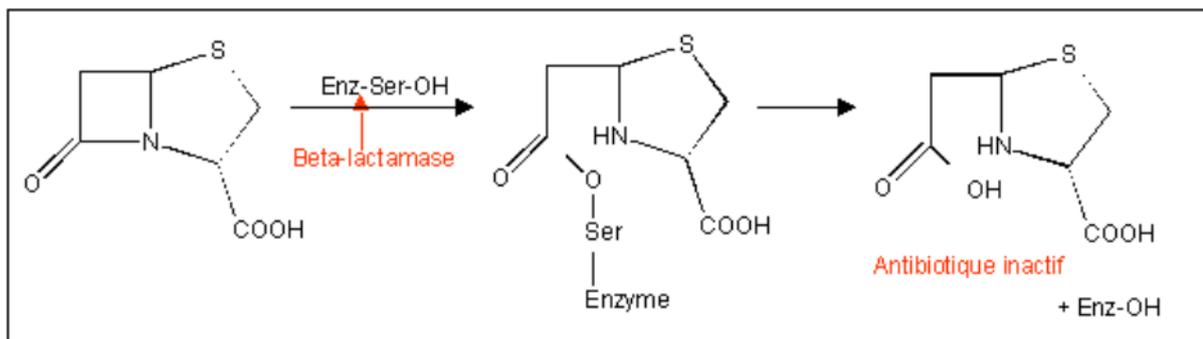


Figure 4 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle bêta-lactame (Barrial et Scotet, 2006)

- **Classification des bêta-lactamases**

Deux types de classification ont été proposées pour les bêta-lactamases : une classification fonctionnelle (phénotypique) (Bush *et al.*, 1995) et une classification moléculaire (Ambler, 1980) (voir tableau 1).

La classification d'Ambler : s'appuie sur l'homologie de séquence des acides aminés. Elle divise les bêta-lactamases en quatre groupes (de A à D).

La classification de Bush : fondée sur les caractéristiques en relation avec l'activité des enzymes (substrat, profil d'inhibition). Elle divise également ces enzymes en quatre groupes.

Tableau 1 : Classification moléculaire et fonctionnelle des bêta-lactamases (Vasseur, 2014)

Classification fonctionnelle de Bush	Classification moléculaire d'Amblar	Substrats	Inhibition par	
			clavulanate	EDTA ¹
1	C	Céphalosporines	-	-
2a	A	Pénicillines	+	-
2b	A	Pénicillines, céphalosporines	+	-
2be	A	Pénicillines, céphalosporines de 3 ^{ème} et 4 ^{ème} génération, monobactames	+	-
2br	A	Pénicillines	+/-	-
2c	A	Pénicillines, carbénicilline	+	-
2d	D	Pénicillines, cloxacilline	+/-	-
2e	A	Céphalosporines	+	-
2f	A	Pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes	+	-
3	B	La plupart des bêta-lactamines	-	+
4 ²				

1 : Acide Ethylène-Diamine-Tétraacétique

2 : La classe 4 regroupe les bêta-lactamases ne pouvant être classées dans les autres groupes.

- **Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines**

Il existe plusieurs bêta-lactamases, elles diffèrent par leur affinité pour le cycle bêta-lactame (voir tableau 2).

Tableau 2 : Présentation des phénotypes de résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines (Jehl *et al.*, 2003)

Antibiotiques marqueurs	Pénicillinase bas niveau	Pénicillinase haut niveau	BLSE
aminopénicilline	R	R	R
Pénicilline+IβL ¹	S	R	R
Carboxypénicilline	R	R	R
C1G	S	R	R
C3G	S	S	R
C3G + acide clavulanique	S	S	S
Carbapénème	S	S	S

1 : IβL : inhibiteurs des bêta-lactamases.

2. Les bêta-lactamases à spectre élargi

Les BLSE sont définies comme des bêta-lactamases, appartenant à la classe A ou D de la classification d'Ambler (**Rodriguez et Struelens, 2006**), capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines (1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} génération) et les monobactames (**Boujemaa, 2015**).

Les BLSE Confèrent donc une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines à l'exception des céphamycines (céfoxitine et céfotétan) et des carbapénèmes (imipénème, ertapénème, etc.). Cependant, Elles peuvent être inhibées *in vitro* par l'acide clavulanique, le tazobactam ou le sulbactam (**Vodovar *et al.*, 2013**).

3. Les différents types de BLSE

Elles sont classées selon leurs types moléculaires, les plus fréquents étant les types TEM (Temoneira- nom du patient), SHV (Sulfhydryl variable) et CTX-M (Céfotaximase-Munich) (**Jacoby et Munoz-Price, 2005**).

- **Les BLSE de type TEM**

La première bêta-lactamase plasmidique de type TEM a été isolée à partir d'une souche d'*Escherichia coli* isolée chez une patient nommée Temoneira, d'où la nomination (**Paterson et Bonomo, 2005**).

La majorité de BLSE de ce type dérivent de quatre à sept mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1, TEM-2) (**Shaikh et al., 2015**).

La substitution les plus courantes sont le glutamate en lysine en position 104, l'arginine en sérine en position 164, la glycine en sérine en position 238 et le glutamate en lysine en position 140.

Les BLSE de ce type sont le plus souvent produites par *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. (**Bradford, 2001**).

- **Les BLSE de type SHV**

La majorité des BLSE de type SHV (très fréquentes chez *Klebsiella pneumoniae*) est caractérisée par la substitution d'acides aminés de la glycine en sérine en position 238 qui transforme le phénotype non-BLSE en phénotype BLSE, la substitution du glutamate en lysine en position 240 qui ne fait qu'augmenter l'activité de l'enzyme (**Gangoue-pieboji, 2007 ; Lagha, 2015**).

- **Les BLSE de type CTX-M**

Les CTX, d'où leur nom, se caractérise par leur activité hydrolytique potentielle sur le céfotaxime (**Paterson et Bonomo, 2005**).

Les BLSE de type CTX-M ont été décrites initialement au milieu des années 1986, et ont depuis lors disséminé largement dans le monde (**Naseer et Sundsfjord, 2011**).

Depuis les années 90, leur diffusion rapide a fait que les enzymes de ce type représentent aujourd'hui les BLSE les plus fréquentes au niveau mondial (**Livermore et al., 2007**).

Il existe plus de 150 variants des enzymes de ce type qui ont été récemment décrits, elles diffèrent des autres types par le fait qu'elles sont plus fortement inhibées par le tazobactam que l'acide clavulanique.

4. Détection des BLSE

Depuis leur apparition en 1983, les BLSE constituent un problème majeur de santé publique, il est donc nécessaire d'avoir des méthodes adéquates qui permettent de détecter les BLSE. Ces techniques sont classées en deux catégories : les techniques microbiologiques et les techniques moléculaires.

4.1. Techniques microbiologiques

Les méthodes microbiologiques utilisent les inhibiteurs des bêta-lactamases tels que l'acide clavulanique en combinaison avec la céftazidime ou le céfotaxime. Le principe de ces méthodes est que l'acide clavulanique inhibe les BLSE et ainsi réduit le niveau de la résistance aux céphalosporines.

La plupart des tests de détection des BLSE sont basés sur la méthode de diffusion. Ainsi plusieurs méthodes ont été décrites parmi lesquelles : le test de double synergie, la méthode de confirmation du CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute), le test à trois dimensions (test de Hodge) et le test espagnol (Nordmann *et al.*, 2012).

4.1.1. Le test de double synergie

C'est le test le plus utilisé et le plus recommandé car il ne nécessite pas de matériel et est de réalisation facile. La synergie s'effectue entre un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération et un inhibiteur de bêta-lactamase tel que l'acide clavulanique. Ce test possède plusieurs variantes, il est basé sur la mise en évidence d'une restauration de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération en présence d'un inhibiteur enzymatique (Drieux *et al.*, 2008).

4.1.4. La méthode proposée par le CLSI

Le CLSI propose l'utilisation de la méthode de disque pour la recherche de la production de BLSE chez les entérobactéries. L'obtention d'un diamètre d'inhibition spécifique à chaque antibiotique permet de suspecter la production de BLSE (NCCLS, 2005).

Cet institut propose, également, de réaliser les tests de dilution en mettant dans le milieu de culture 1 µg/ml d'une de ces 5 bêta-lactamines (Aztréonme, Céfotaxime, Céftriaxone, céftazidime et Céfopodoxine) à spectre élargi. Les souches présentant une CMI (Concentration Minimale d'Inhibition) supérieure ou égale à 2 µg/ml seront suspectées comme productrices de BLSE (NCCLS, 2005).

4.1.3. Test espagnol (double disque)

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

Il consiste à déposer un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de 3ème génération à une distance de 30mm (centre à centre), de laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante. Après diffusion, on enlève le disque d'AMC et le remplacer par un disque de CTX.

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3eme génération appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3eme génération seul, ce qui indique une production d'une BLSE.

4.1.4. Test de Hodge modifié

Ce test repose sur l'utilisation d'un disque d'imipénème (10 µg) et la souche de référence sensible à tous les antibiotiques *E. coli* ATCC 25922 ensemencée par écouvillonnage sur gélose Mac Conkey. Les souches test suspectes de produire une carbapénèmase et des souches témoins (témoin positif : *K. pneumoniae* productrice de carbapénèmase (KPC-3) et témoin négatif *E. coli* ATCC 25922 non productrice de carbapénèmase) ont été ensemencées en stries depuis le disque vers le bord de la gélose. Après incubation à 37°/24H, la production d'une carbapénèmase se traduit par une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème (Lee *et al.*, 2010 ; Dortet *et al.*, 2014).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Centre et durée de l'étude

Il s'agit d'une étude prospective, menée au laboratoire d'analyses microbiologiques à l'hôpital militaire régionale universitaire de Constantine (HMRUC). Durant une période de trois mois, allant du 01/03/2019 au 30/06/2019. En plus d'une étude rétrospective d'une année (2018).

L'HMRUC est une structure dotée de 400 lits, il est constitué de l'ensemble des services administratifs, services chirurgicaux et services médicaux, dont le laboratoire central est constitué de six unités :

- Microbiologie
- Biochimie
- Immunologie
- Toxicologie
- Centre de transfusion sanguine
- Salle de prélèvement

1.2. Recueil des données

Les données sont recueillies à partir des registres, des fiches de l'antibiogramme et par consultation du système informatique du laboratoire de microbiologie. Les données manquantes dans le laboratoire ont été récupérées à partir des archives des différents services. Ces données comportent les services, la nature des échantillons, les micro-organismes isolés ainsi que les données d'antibiogramme.

Les différents types d'échantillons bactériologiques considérés dans l'étude sont :

- Urines.
- Liquide céphalorachidien.
- Pus.
- Crachat.
- Prélèvement distal prothèse (PDP).

- **Souches bactériennes**

Les souches analysées dans cette étude proviennent de prélèvements à visée diagnostique des patients hospitalisés dans différents services de l'HMURC et les patients ambulatoires (externes).

L'étude porte sur **666** patients hospitalisés et externes.

Les données concernant les patients (sexe, âge, Date et nature du prélèvement, service demandeur, examen demandé) ont été recueillies.

- **Taille de l'échantillon**

Au total, 751 souches d'entérobactéries ont été isolées dont 261 souches d'entérobactéries productrices de BLSE sont isolées.

2. Méthodes :

2.1. Examen macroscopique (direct)

L'examen macroscopique est la première étape d'identification effectuée où on vérifie l'aspect, la couleur et la consistance des prélèvements reçus dans une seringue ou dans un récipient stérile.

- **Couleur**

La couleur des prélèvements qui sont majoritairement du pus et des urines va du jaune-vert au rouge brun. Une couleur rouge est généralement due à un mélange avec du sang.

- **Consistance**

Le pus peut être : épais, visqueux, élastique ou fluide. Il peut être homogène ou granuleux.

2.2. Culture et isolement

Dès la réception d'un prélèvement et afin d'éviter les éventuelles contaminations, l'échantillon est rapidement mis en culture.

La manipulation de l'échantillon s'effectue à proximité du bec bunsen à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, cela en déchargeant en stries condensées l'écouvillon de l'échantillon sur toute la surface du milieu gélosé préalablement coulé en boîte de Pétri. L'ensemencement est réalisé selon la technique des quatre quadrants de façon à isoler les bactéries et obtenir des colonies. Les boîtes ainsiensemencées sont incubées à 37°C pendant 24h excepté les boîtes de gélose au sang frais et au sang cuit qui sont incubés en étuve en atmosphère enrichie en CO₂ (anaérobiose).

Six milieux de culture sont utilisés pour l'isolement des bactéries selon le type d'échantillon et les bactéries suspectées : gélose nutritive, gélose au sang frais, gélose au sang cuit, milieu Chapman, milieu Hektoen et le milieu CLED (Cystine Lactose Electrolyte Déficiant).

2.3. Examen microscopique

- **Examen à l'état frais**

C'est l'examen microscopique de bactéries vivantes, en milieu liquide. Il permet d'apprécier leur mobilité et leur morphologie.

- A partir d'un prélèvement liquide et à l'aide d'une pipette Pasteur, déposer une goutte sur une lame propre, puis recouvrir la goutte d'une lamelle.

- La préparation est examinée entre lame et lamelle au grossissement X 40.

Les entérobactéries se présentent sous forme des bacilles, certaines d'entre elles sont mobiles (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Enterobacter* et *Serratia*) d'autres sont immobiles (*Klebsiella pneumoniae*).

Observation des polynucléaires, des hématies, des cellules épithéliales, des cristaux...

- **Coloration au bleu de méthylène**

Les protocoles de coloration ont été effectués par les méthodes classiques (voir annexe 1).

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode conventionnelle (voir annexe 1).

2.4. Identification biochimique pour entérobactéries

2.4.1. La galerie Rapid™ ONE Panel

- **Procédure**

C'est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries en quatre heures.

- Réaliser une suspension bactérienne d'opacité égale à 0.5 Mc-Farland en homogénéisant soigneusement les bactéries dans un tube à hémolyse contenant de l'eau distillée.

- Introduire à l'aide d'une micropipette la suspension dans les microtubes de la galerie.

- Incliner légèrement la galerie vers l'avant afin d'obtenir les mêmes volumes dans tous les microtubes de la galerie.

- **Incubation des plaquettes RapID™ ONE**

Mettre à incuber les plaquettes inoculées entre 35°C et 37°C dans un incubateur sans CO₂ pendant 4 heures. Pour faciliter la manipulation, les plaquettes peuvent être mises à incuber dans les boîtes d'incubation (Murray *et al.*, 2007).

- **Lecture et interprétation**

La lecture des réactions se fait à l'aide de tableau de lecture (annexe 02) et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification fourni par le fournisseur.

2.4.2. Galerie API 20E

API 20E est un système pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatifs, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données pour l'identification, il s'agit de galerie qui se présente sous forme de produits desséchés que l'on réhydrate par inoculation de la suspension du germe à tester.

- **Technique**

On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation avec la répartition environ 5ml d'eau distillé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, sans oublier d'inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

En effet, on retire la galerie de son emballage individuel et on la dépose dans la boîte d'incubation, puis on prépare l'inoculum bactérien : une colonie dans 5ml d'eau physiologique stérile, Son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc-Farland.

Pour inoculer la galerie, il faut remplir à l'aide d'une pipette Pasteur les tubes et les cupules des tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne, et pour les autres tests on va remplir uniquement les tubes (et non les cupules) avec la création d'une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule par l'huile de vaseline stérile.

Enfin, on incube à 37 C° ± 1C° pendant 18-24 heures.

- **Lecture**

La lecture des galeries API 20E se fait selon les indications du fournisseur. Après codification des réactions en un profil numérique sur une fiche d'identification (voir annexe 4), on

se réfère à un catalogue analytique où l'identification est donnée avec un pourcentage et une appréciation ou une base de données.

2.4.3. Tests complémentaires

- **Test d'oxydase**

La recherche d'oxydase est une technique d'identification en bactériologie concernant les bactéries à Gram négatif.

Principe

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (**la NN-diméthyl-paraphénylène diamine**) en un dérivé rose violacé.

Technique

Placer un morceau de papier imprégné de la NN-diméthyl-paraphénylène diamine sur une lame à l'aide d'une pince flambée avec une pipette Pasteur prélever une colonie sur milieu solide et la déposer doucement sur le papier.

Résultats

- Si la colonie prend une teinte rose, violette, le germe possède une oxydase : le test est positif.
- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif.

- **Test de catalase**

Principe

Il permet la détection de l'enzyme (Catalase) qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) avec dégagement d'oxygène.

Technique

- Déposer sur une lame propre et sèche une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) à 10 volumes.
- Ajouter à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée l'inoculum bactérien.

Résultats

- Le résultat positif se traduit par l'apparition de bulles gazeuses (Catalase positive).

2.5. Sensibilité aux antibiotiques

• Principe

L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en gélose (méthode des disques), selon le clinical and Laboratory Standards Institute (**CLSI**) qui repose sur la connaissance du phénotype sauvage caractéristique de l'espèce et de différents phénotypes de résistance acquis. Ces dernières sont définies non seulement par des caractères de résistance en termes de catégories clinique ("I", "S" ou "R"), mais aussi en termes de diminution significative de sensibilité et par des images typiques (Synergie).

• Technique

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (inoculum à 0,5 Mac Farland de turbidité).

- L'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube pour le décharger.

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche de haut en bas, en stries serrées.

- Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

- Recharger l'écouvillon pour chaque boîte de Pétri.

- Application des disques d'antibiotiques : elle peut se faire à l'aide de distributeurs automatiques. Certains disques sont déposés manuellement avec une pince stérile, utiles pour un rapprochement ou éloignement des disques, ou pour un choix positionnel comme l'emplacement des inhibiteurs.

- Incubation : les boîtes sont mises à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h (**Sekhri-Arafa, 2011**).

• Choix des antibiotiques

Les antibiotiques testés lors de la réalisation de l'antibiogramme des entérobactéries sont : Ampicilline (AMP), Amoxicilline-acide clavulanique (AMC), Ticarcilline (TIC), Pipéracilline (PRL), Céfazoline (KZ), Céfotaxime (CTX), Céftriazone (CRO), Imipénème (IPM), Amikacine (AK), Gentamicine (CN), Acide nalidixique (NA), Ciprofloxacine (CIP), Colistine (CT), Triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT), Chloramphénicol(C).

Lecture et interprétation

Les résultats sont exprimés en mm après lecture des diamètres des zones d'inhibition et sont interprétés en trois catégories : S= sensible, R= résistant, et I= intermédiaire, en se référant aux normes CLSI.

2.6. Recherche de la bêta-lactamase à spectre élargi

2.6.1. Test de synergie

Il consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de bêta-lactamases et un disque C3G (céftriaxone, ceftazidime, et céfotaxime) ou un monobactame (aztréonam). L'image de synergie dite en **bouchon de champagne** est caractéristique de la présence de BLSE (**Bourjilat *et al.*, 2009**).

- **Technique**

Selon la technique du CLSI de l'antibiogramme, un inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18h. La gélose Mueller-Hinton estensemencée selon la méthode préconisée par CLSI, puis deux disques, l'un contenant l'association amoxicilline-acide clavulanique et l'autre une céphalosporine de troisième génération, sont placés côte à côte à 3cm de distance mesurés centre à centre. Les boîtes de Pétri sont incubées 18h à 37°C (**Lagha, 2015**).

L'image de synergie peut-être en bouchon de champagne caractéristique de la BLSE, ou bien en entonnoir correspondant souvent à une hyperproduction de bêta-lactamases naturelles.

2.6.2. Test du double disque (test espagnol)

La détection de la bêta-lactamase à spectre élargi (étendu) peut être confirmée par le test du double disque. Ce test plus sensible consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G.

La technique est la suivante :

A partir d'une culture de 18h une suspension est préparée avec une opacité égale à **0.5 Mc Farland**, une gélose Mueller-Hinton estensemencée selon la technique de l'antibiogramme. Deux disques sont déposés, un disque AMC et un disque de C3G (CTX ou CAZ). On laisse diffuser à température ambiante pendant une heure, puis le disque AMC est ôté et remplacé par un disque de C3G (CTX ou CAZ). Les boîtes sont incubées 18h à 37°C.

Le test est considéré positif, si le diamètre de la zone d'inhibition du disque de C3G est supérieur de 4 à 5 mm, comparé à celui observé autour du disque de C3G appliqué après pré-diffusion du disque de l'AMC.

RÉSULTATS

Résultats

1. Isolement et identification bactérienne

1.1. Résultats de l'identification macroscopique

- Aspect des colonies :

A partir de différents échantillons, l'isolement des souches sur les milieux : gélose au sang cuit, gélose au sang frais, Hektoen, Chapman, CLED et gélose nutritive a permis d'examiner la morphologie des colonies. Certaines colonies se présentent sous une forme granulaire et d'autres ont un aspect muqueux. Leur diamètre est compris entre 1 et 2,5mm, exception faite pour *Escherichia coli* qui donne parfois des colonies naines (voir tableau 3).

Tableau 3: Caractères macroscopiques des colonies des souches d'entérobactéries

Bactérie	Caractères macroscopiques
<i>Escherichia coli</i>	Colonies rondes, lisses, a bords réguliers de 2 à 3mm de diamètre et non pigmentées.
<i>Klebsiella</i>	Colonies de type mucoïdes, volumineuses de 4 mm de diamètre, bombées, brillantes, opaques et souvent confluentes.
<i>Enterobacter</i>	Colonies opaques, brillantes, souvent d'aspect gras.
<i>Citrobacter</i>	Colonies lisses, légèrement convexes, opaques ou translucides à contours réguliers d'un diamètre de 2 à 4 mm et peuvent avoir un aspect rugueux ou muqueux.
<i>Proteus</i>	Les colonies forment un aspect en nappe. Odeur désagréable caractéristique de la bactérie.

Les figures 5, 6 et 7 montrent les aspects des colonies de quelques espèces identifiées.

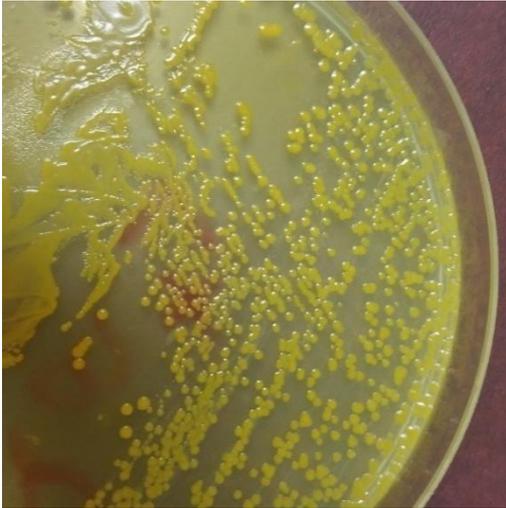


Figure 6 : Observation macroscopique des colonies d'*Escherichia coli* sur milieu Hektoen



Figure 5 : Observation macroscopique des colonies d'*Escherichia coli* sur gélose nutritive



Figure 7 : Observation macroscopique des colonies de *Klebsiella pneumoniae* sur milieu CLED

1.2. Résultats de l'identification microscopique

1.2.1. Examen à l'état frais

L'observation des cellules à l'état frais indique que certaines souches sont mobiles et d'autres sont immobiles.



Figure 8 : Observation microscopique à l'état frais

1.2.2. Examen après coloration de Gram

L'observation des souches étudiées après coloration de Gram au « G x 100 », nous a révélé que ces dernières sont à Gram négatif et ont une forme en bacilles ou coccobacilles. Elles peuvent être isolées, en paires ou regroupées en amas, (voir figure 9).

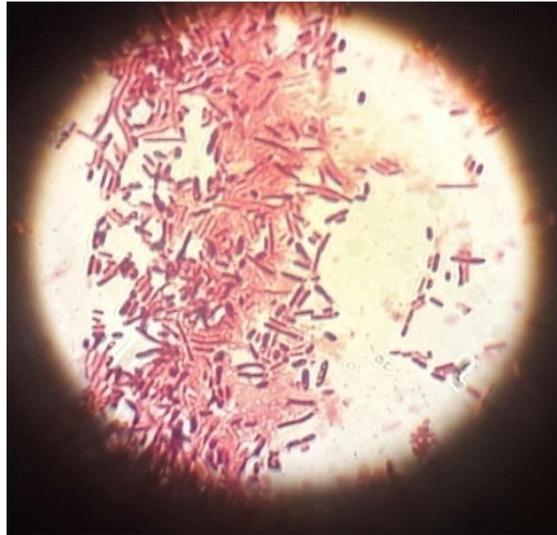


Figure 9 : Observation microscopique après coloration de Gram (bacilles à Gram négatif)

1.3. Identification biochimique des souches

1.3.1. Résultats de la galerie API 20 E



Figure 10 : Caractères biochimiques de *Klebsiella pneumoniae* par la galerie API 20E après incubation



Figure 11 : Caractères biochimiques d'*Escherichia coli* par la galerie API 20E après incubation

1.3.2. Résultats de la galerie RAPID™ ONE



Figure 12: Caractères biochimiques de la bactérie *Escherichia coli* par la galerie RAPID™ ONE



Figure 13 : Caractères biochimiques de la bactérie *Klebsiella pneumoniae* la galerie RAPID™ ONE

1.2.3. Tests complémentaires

- Test d'oxydase

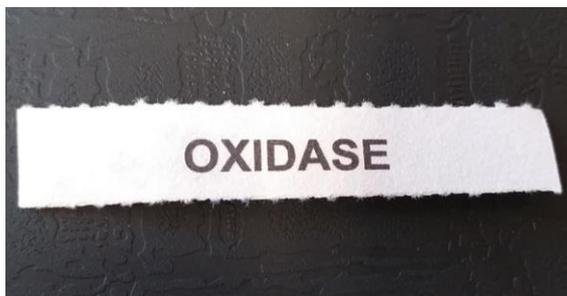


Figure 14 : Test d'oxydase négatif

- Test de catalase



Figure 15 : Test de catalase positif (+)

1.4. Résultats de l'antibiogramme

La figure ci-dessous représente le résultat de l'antibiogramme d'*Escherichia coli* effectué sur le milieu de culture Muller Hinton.

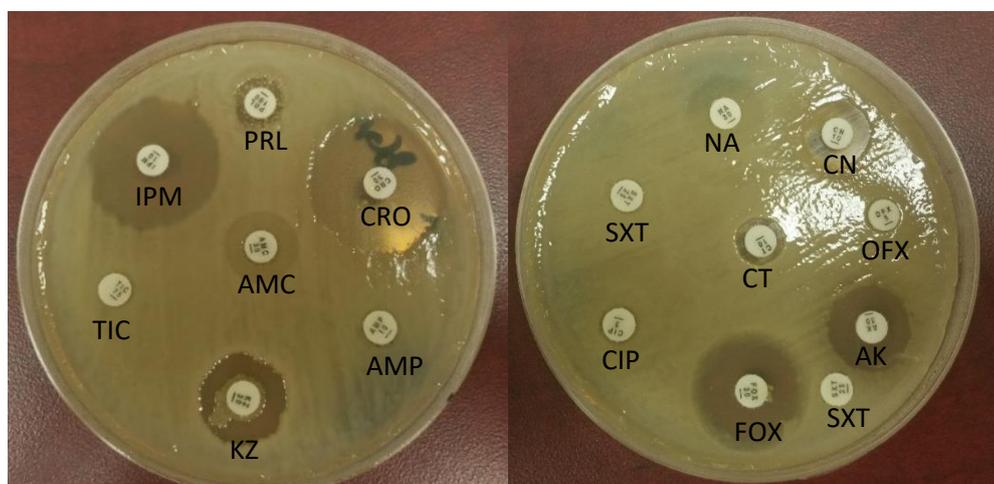


Figure 16 : Antibiogramme d'*Escherichia coli*

1.5. Résultats du test de synergie

La figure 17 montre le résultat du test de synergie effectué pour la détection des BLSE.

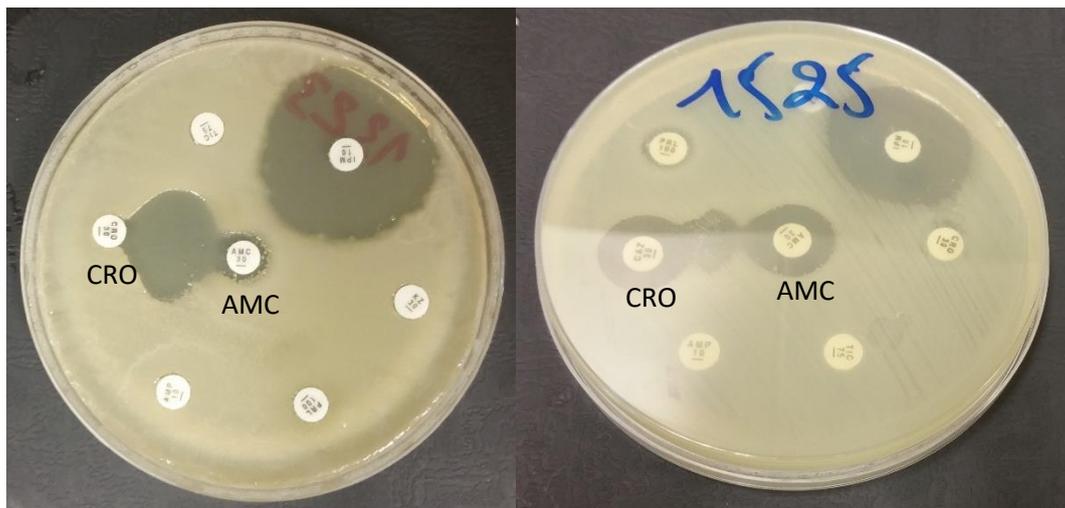


Figure 17 : Test de synergie positif d'*Escherichia coli*

1.6. Résultat du test de double disque (test espagnol)

La figure ci-dessous montre le résultat du test espagnol effectué pour la détection des BLSE.

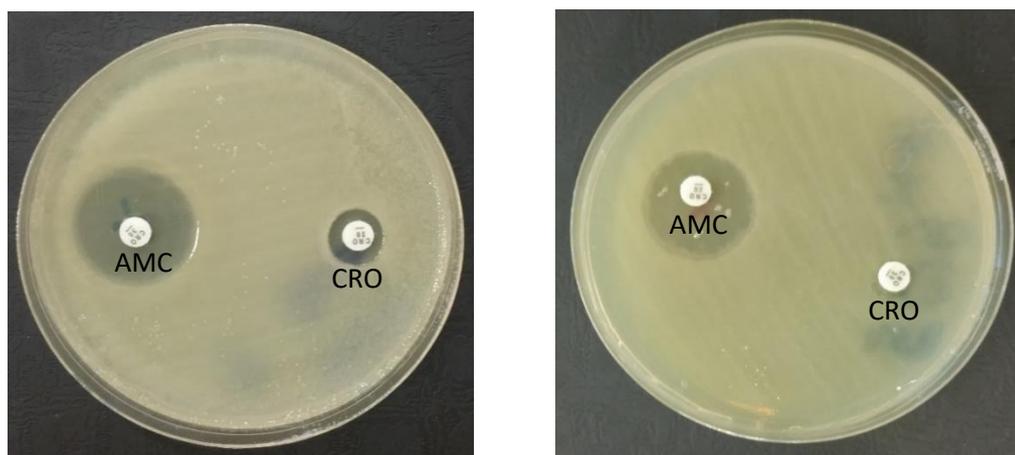


Figure 18 : Test espagnol positif d'*Escherichia coli*

2. Distribution globale des souches d'entérobactéries isolées

2.1. Distribution des souches d'entérobactéries selon l'espèce

Au total, 751 souches d'entérobactéries ont été colligées, elles sont réparties comme suit : l'espèce *Escherichia coli* est prédominante avec une fréquence de 51%, suivi de *Klebsiella pneumoniae* avec une fréquence de 21%, suivi d'*Enterobacter spp.* avec une fréquence de 7%. Les autres espèces se répartissent de façon plus ou moins homogène comme il est indiqué dans la figure 19.

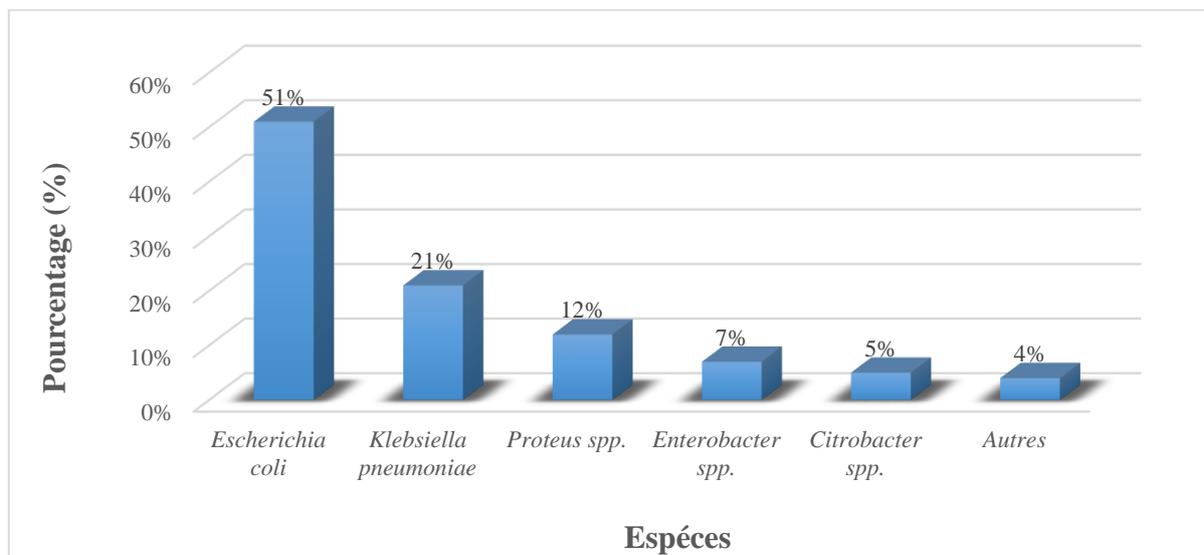


Figure 19 : Distribution des souches d'entérobactéries selon l'espèce (n=751)

2.2. Distribution d'entérobactéries selon l'origine

La figure 20 montre que les souches hospitalières sont prédominantes avec une fréquence de 82% contre 18% pour les souches externes.

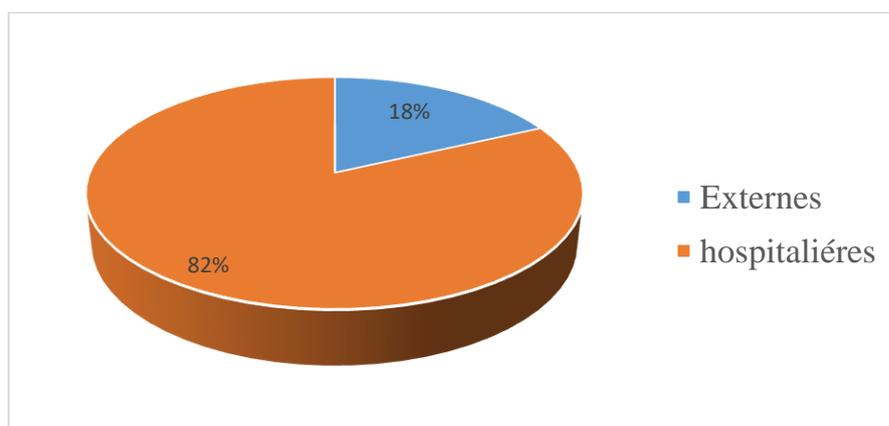


Figure 20 : Répartition des souches d'entérobactéries selon l'origine (n=751)

2.3. Distribution des souches d'entérobactéries en fonction de sexe

Comme l'indique la figure 21, la répartition des souches isolées selon le sexe montre que les patients de sexe masculin sont plus touchés avec une fréquence de 56% que les patients de sexe féminin avec 44%, avec un sexe ratio de 1,27.

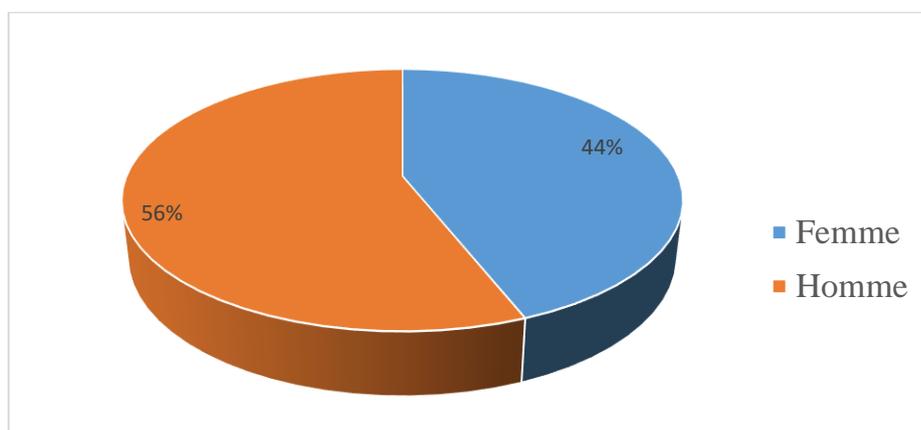


Figure 21 : Répartition des souches d'entérobactéries en fonction du sexe (n=751)

2.4. Distribution des souches d'entérobactéries selon les services

La figure 22 montre que la fréquence la plus élevée est enregistrée pour les souches externes avec un taux de 18% suivi du service de médecine interne avec 16%, de service chirurgie générale avec 15% et enfin de l'orthopédie, réanimation avec 11%, 7% et 7% respectivement.

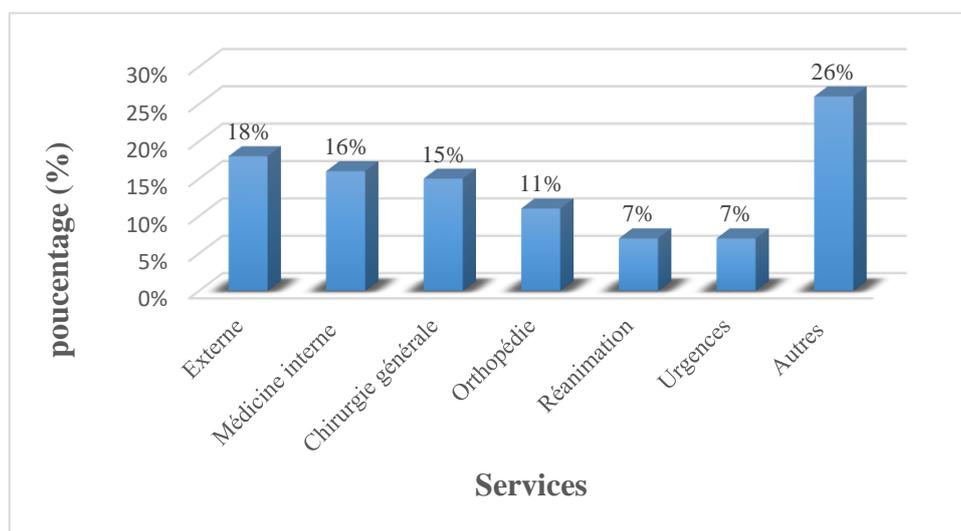


Figure 22 : Répartition des souches d'entérobactéries selon les services (n=751)

2.5. Distribution des souches d'entérobactéries selon le type de prélèvement

Dans notre étude, et comme indiqué dans la figure 23, la majorité des souches d'entérobactéries sont isolées à partir des urines et du pus avec un taux de 45%, suivi par celle des autres prélèvements avec 10%.

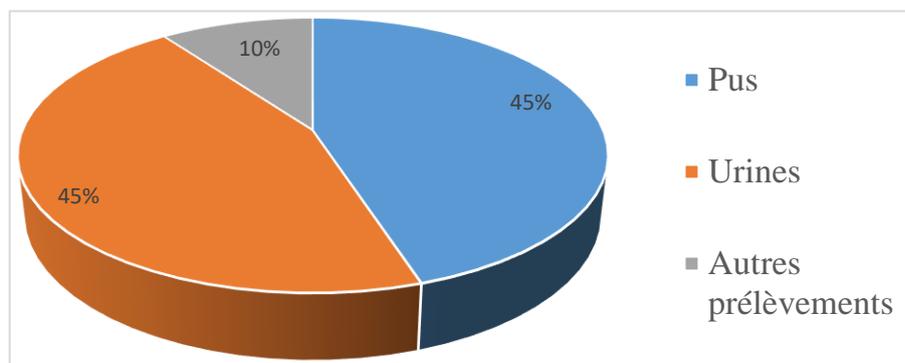


Figure 23 : Répartition des souches d'entérobactéries selon le type de prélèvement (n=751)

3. Profil de résistance globale aux antibiotiques des souches d'entérobactéries

Les taux de résistance aux antibiotiques sont comme suit :

- Concernant les bêta-lactamines : Les pénicillines : 89% pour l'AMP, 64% pour l'AMC. Les céphalosporines de 1^{ère} et 3^{ème} génération : 60% pour KZ, 35% pour CTX, 35% pour le CRO qui sont des indicateurs de BLSE, 78% pour la TIC et la PRL et 28% pour la FOX. Les carbapénèmes : 1% pour l'IPM, il est presque actif sur toutes les entérobactéries.
- Concernant les aminosides : 5% pour l'AK et 25% pour la CN.
- Concernant les quinolones / fluoroquinolones : la fréquence de la résistance à le NA est de 48%, et 33% pour l'OFX, suivie d'une fréquence de 28% pour la CIP.
- Concernant les sulfamides : une fréquence de 55% est enregistrée pour le SXT.
- Concernant les polypeptides : une fréquence de 21% est enregistrée pour la CT.
- Concernant les phénicoles : une fréquence de 16% est enregistrée pour le C.

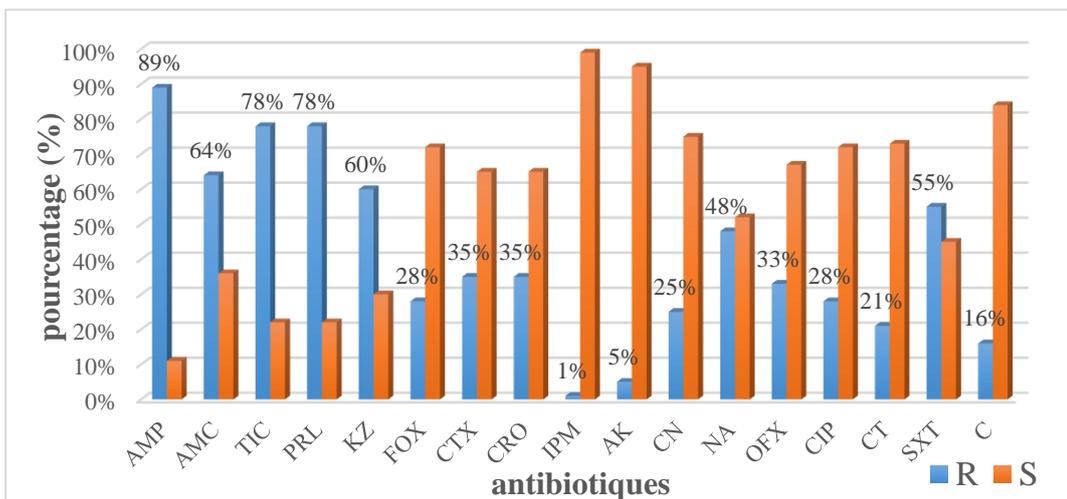


Figure 24 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries globales isolées (n=751)

3.1. Profil de résistance des souches d'entérobactéries isolées selon l'origine

3.1.1. Profil de résistance des souches d'entérobactéries isolées chez les patients hospitalisés

La figure ci-dessous montre que les entérobactéries isolées des patients hospitalisés présentent des résistances importantes aux pénicillines ainsi qu'au KZ avec un taux de 64%. En revanche, l'IPM reste la bêta-lactamine la plus active avec 1% de résistance.

Une faible résistance est observée vis-à-vis des fluoroquinolones avec des taux de 34% et 29% pour l'OFX et la CIP respectivement.

L'AK représente l'aminoside le plus actif avec un taux de résistance de 6%.

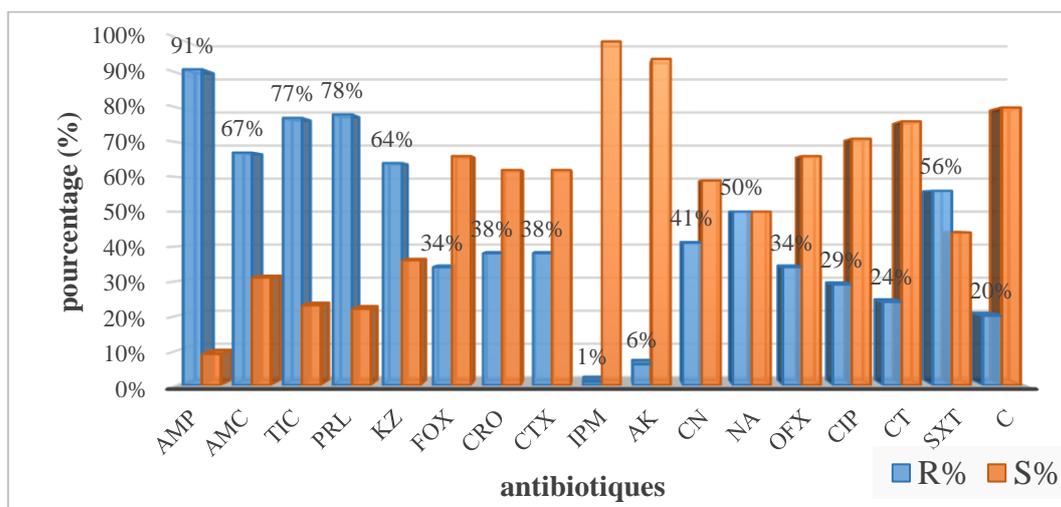


Figure 25 : Profil de résistance des souches d'entérobactéries isolées chez les patients hospitalisés (n=618)

3.1.2. Profil de résistance des souches d'entérobactéries isolées chez les patients externes

La figure 26 montre que les souches d'entérobactéries isolées de patients ambulatoires présentent une résistance élevée aux pénicillines avec des taux de 83%, 79% et 78% pour l'AMP, TIC et PRL respectivement. L'acide clavulanique présent dans l'AMC rétablit la sensibilité à 51%.

En revanche, les fluoroquinolones enregistrent une faible résistance avec des pourcentages de 28% et 24% pour l'OFX et la CIP.

L'IPM et l'AK conservent une excellente activité vis-à-vis des souches externes avec des taux respectifs de 1% et 3%.

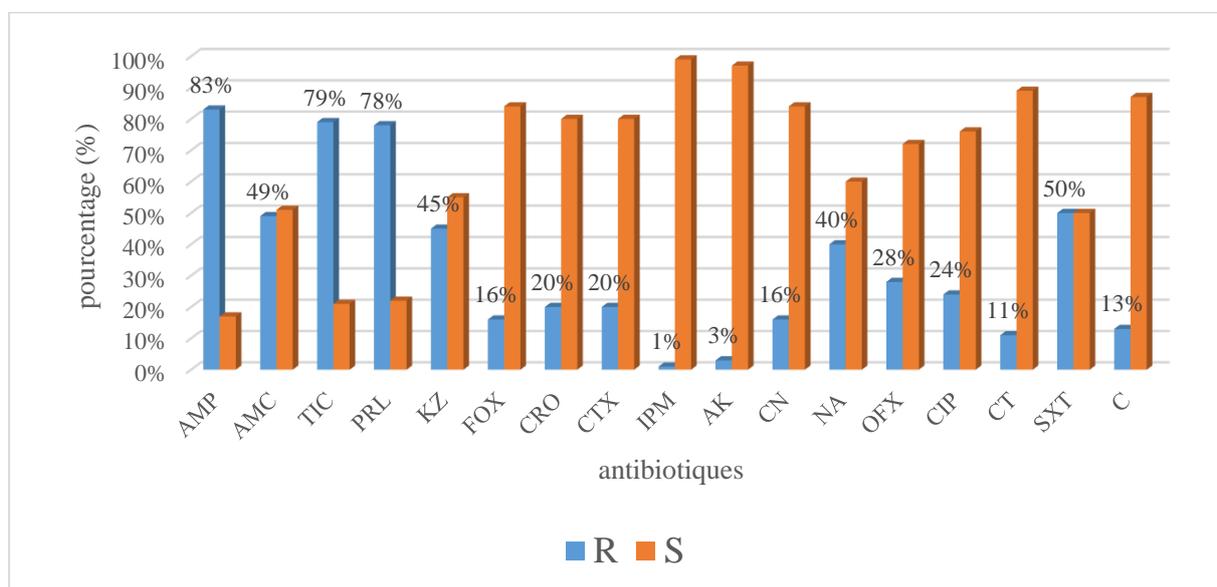


Figure 26 : profil de résistance des entérobactéries isolées chez les patients externes (n=133)

3.2. Profil de résistance des souches d'Escherichia coli isolées

Le profil de résistance d'Escherichia coli aux antibiotiques, comme indiqué dans la figure 27, a montré une résistance importante à la FOX (91%), CIP (73%) et au NA (70%).

Cette souche a été généralement sensible au CT (33%) et à l'OFX (34%), par contre on note une résistance très faible à IPM (10%). En revanche, le C garde une excellente activité sur la souche Escherichia coli avec un taux de résistance faible de (62%).

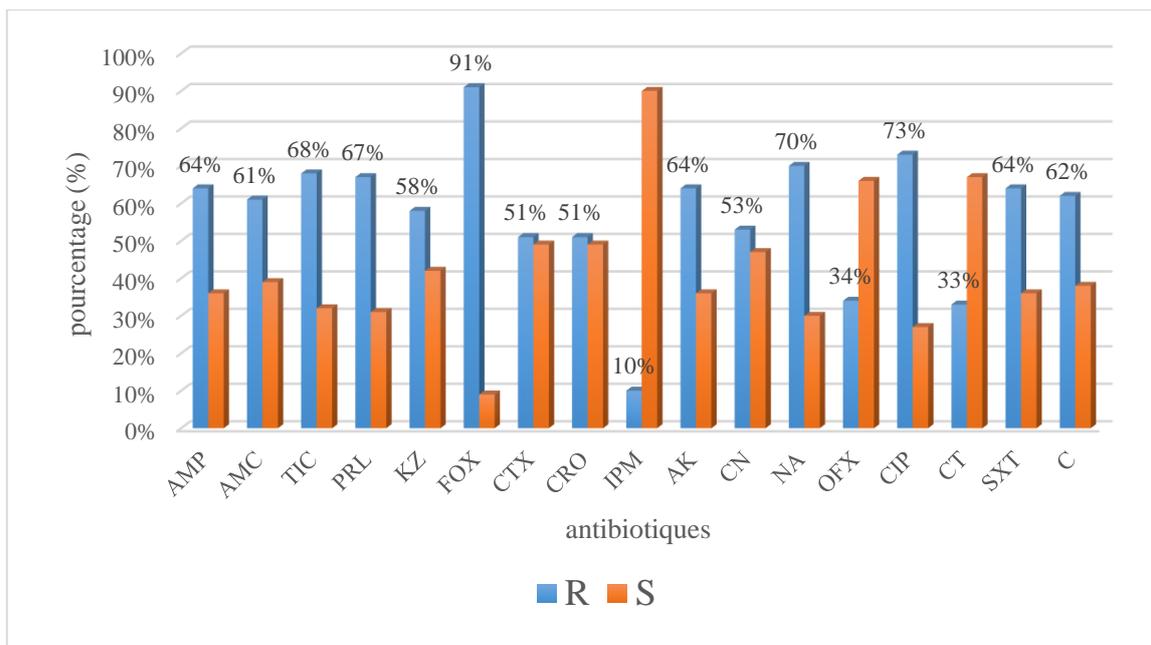


Figure 27 : Profil de résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées (n=380)

3.3. Profil de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées

La figure ci-dessous montre une résistance presque totale à l’AMP, la TIC et la PRL (résistance naturelle). Un taux de résistance élevé de 74% pour l’AMC, 72% pour KZ et 62% pour CTX et CRO. On note également une sensibilité élevée vis-à-vis de la FOX 89%, la CIP 97%, l’AK 91% et une résistance presque nulle pour l’IPM (2%), C (10%) et la CT (3%).

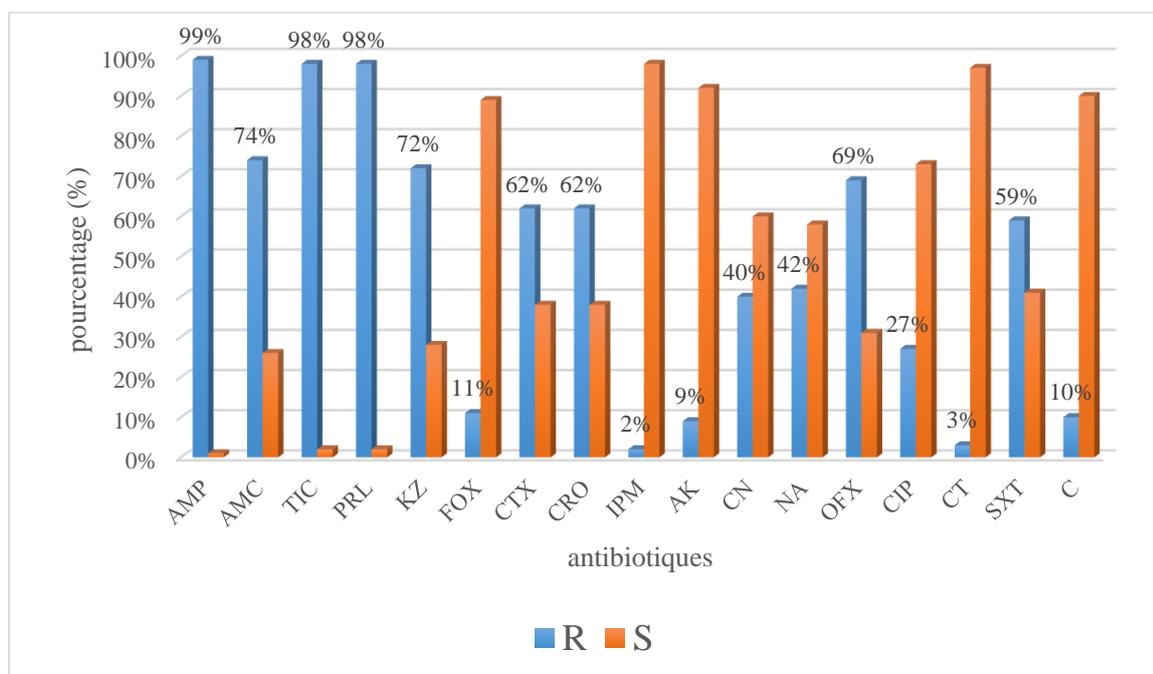


Figure 28 : profil de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées (n=152)

3.4. Profil de résistance des souches de *Proteus spp.* isolées

La figure 29 montre que *Proteus spp.* présentent une résistance très élevée à l'AMP (97%), l'AMC (67%), NA (87%) et une résistance totale à la CT.

Une faible résistance est observée la CIP (24%) et à TIC (17%) ainsi qu'à l'AK.

Proteus est totalement sensible vis-à-vis l'IPM. En revanche, une résistance importante est observée aux CTX et CRO (32%).

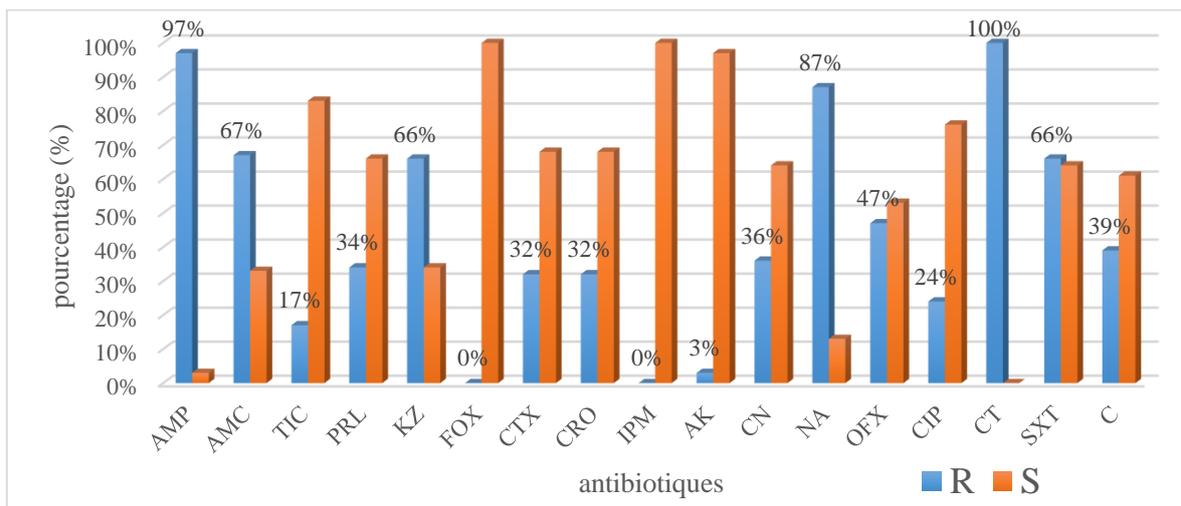


Figure 29 : Profil de résistance des souches de *Proteus spp.* isolées (n=91)

4. Distribution des souches d'entérobactéries selon le phénotype de résistance aux bêta-lactamines

La figure 30 montre que les BLSE représentent le phénotype de résistance aux bêta-lactamines le plus fréquemment rencontrés 35%, suivis par les pénicillinases de bas niveau (PBN) 18% et les penicillinases de haut niveau (PHN) 16%.

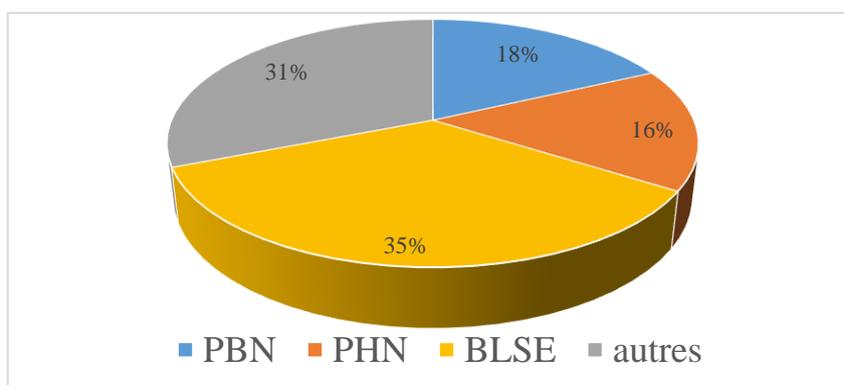


Figure 30 : Distribution des souches d'entérobactéries isolées selon le phénotype de résistance aux bêta-lactamines (n=751)

5. Principaux phénotypes de résistance aux bêta-lactamines et résistances associées

Les E-BLSE enregistrent les plus forts taux de résistances associées, surtout à l'AMC qui atteint les 100% ainsi qu'au SXT avec 76%.

Les taux les plus faibles concernent le phénotype sensible.

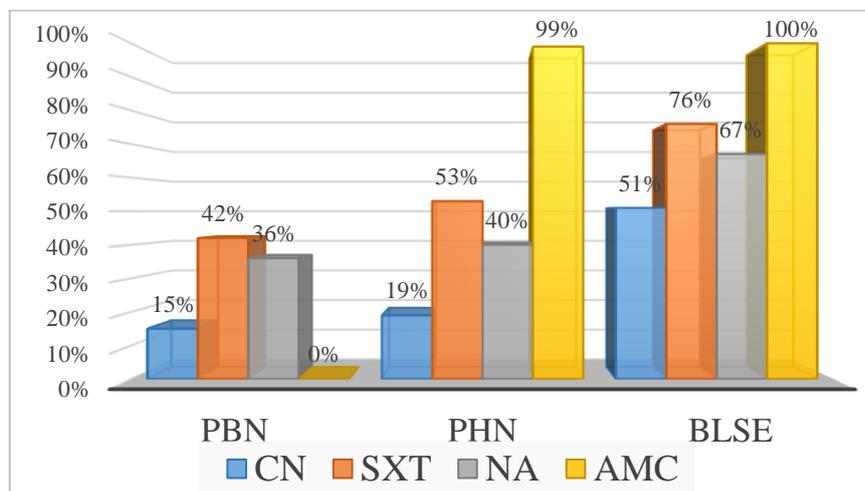


Figure 31 : Résistances associées aux phénotypes de résistance aux bêta-lactamines (n=516)

6. Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+)

Sur un total de 751 souches d'entérobactéries isolées, 261 souches sont productrices de BLSE (+) avec un pourcentage de 35%.

6.1. Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon l'espèce

La figure ci-dessous montre la répartition des 261 souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées selon l'espèce. Cette distribution rapporte que *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont les bactéries qui occupent toujours les premières classes avec les plus fortes proportions (43% et 40% respectivement).

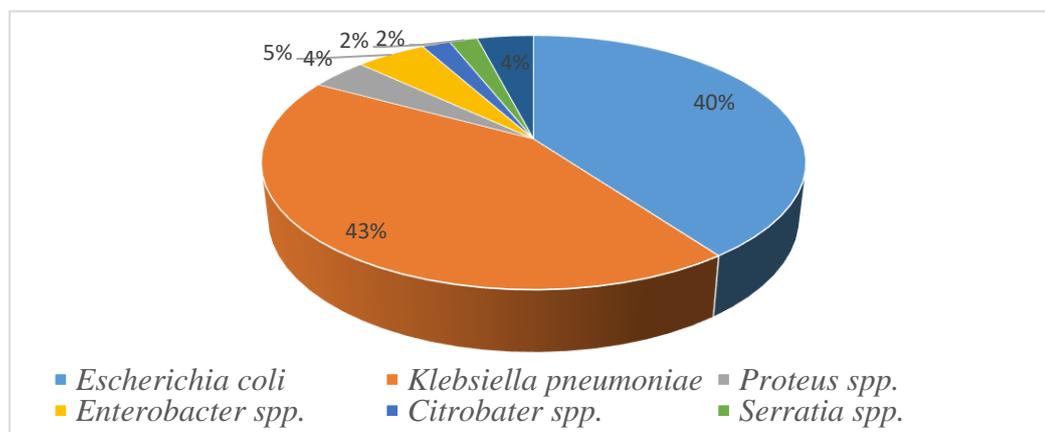


Figure 32 : Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon l'espèce (n=261)

6.2. Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon le sexe

Le tableau 4 montre une prédominance chez les hommes 64% contre 36% chez les femmes avec un sexe ratio de 1,74.

Tableau 4 : Répartition des souches E-BLSE selon le sexe (n=261)

Sexe	Souches des E-BLSE	
	Effectif	%
Féminin	95	36%
Masculin	166	64%
Total	261	100%

6.3. Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon l'origine

Le tableau 5 nous indique que la fréquence des souches BLSE (+) hospitalières 90% est plus importante que la fréquence des souches externes 10%.

Tableau 5 : Répartition des souches E-BLSE selon l'origine (n=261)

L'origine	Souches des E-BLSE	
	Effectif	%
Externes	27	10%
Hospitalières	234	90%
Total	261	100%

6.4. Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon le type de prélèvement

Les résultats illustrés dans le tableau 6 indiquent que la fréquence des souches isolées à partir du pus 51% est plus élevée que celles des souches isolées des urines 32% et celles des souches isolées des autres prélèvements 17%.

Tableau 6 : Répartition des souches d'E-BLSE selon le type de prélèvement (n=261)

Le type de prélèvement	Urines	Pus	Autres	Total
Effectif	83	134	44	261
%	32%	51%	17%	100%

6.5. Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon le service

Certains services hospitaliers sont apparus plus concernés par le problème de résistance lié à la production de BLSE, notamment les services de chirurgie générale, médecine interne et orthopédie d'où provenaient respectivement de **18%** **17%** et **17%**, suivi par le service de réanimation avec un taux de **8%**.

Les autres services étaient répartis comme suivant : pédiatrie **7%**, urgences **5%** et Néphrologie **4%** (voir figure 33).

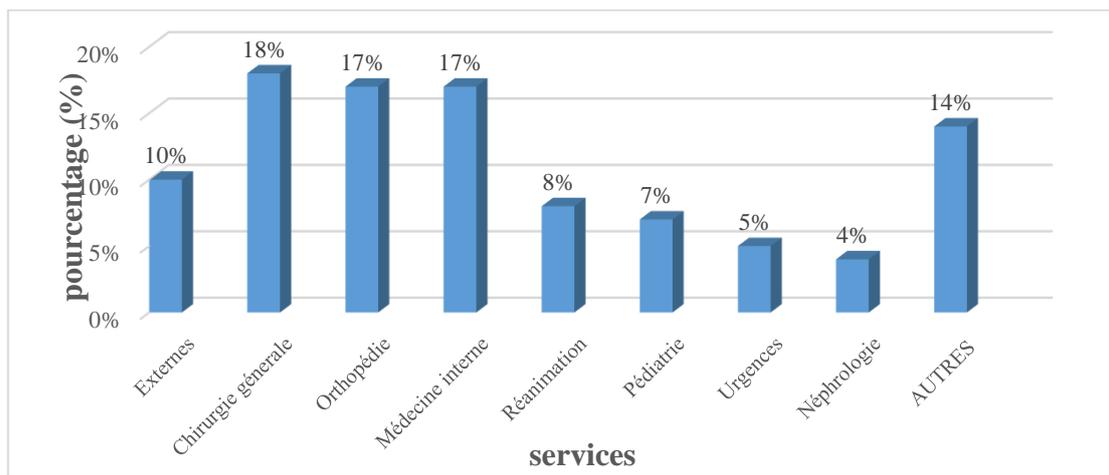


Figure 33 : Distribution des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon les services (n=261)

7. Profil de résistance globale aux antibiotiques des souches d'entérobactéries BLSE (+)

La figure 34 indique une résistance élevée (100%) des souches d'entérobactéries productrices de BLSE aux pénicillines (AMP, AMC, TIC et PRL) et aux céphalosporines de 1^{ère} et de 3^{ème} générations (KZ, CTX et CRO).

Suivie d'un taux de résistance assez élevé de 76% au sulfamide (SXT), une résistance aux quinolones de 67%, 50%, 47% aux NA, OFX et CIP respectivement, et une résistance de 51% aux aminosides (CN).

En revanche elles restent sensibles à l'IPM, à l'AK, à la CT et au C.

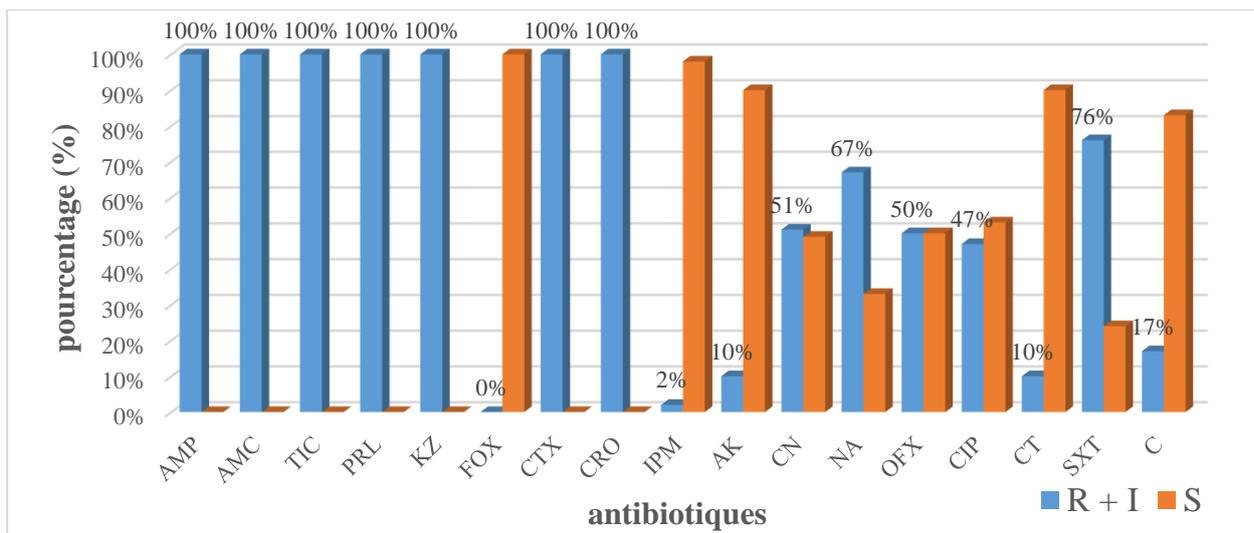


Figure 34 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries BLSE (+) (n=261)

7.1. Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* BLSE (+)

Klebsiella pneumoniae possède une résistance naturelle à l'AMP, à l'AMC, à la TIC et à la PRL, et peut acquérir des résistances multiples (Sekhri-Arafa, 2011).

La figure 35 montre une résistance de 100% aux CTX et CRO (marqueurs de BLSE) ainsi qu'un taux de résistance de 72% au SXT et de 54% au NA.

Une faible résistance est observée de vis-à-vis de la CIP (36%) et au C (10%). L'IPM reste très actif sur cette espèce avec une résistance de 2%.

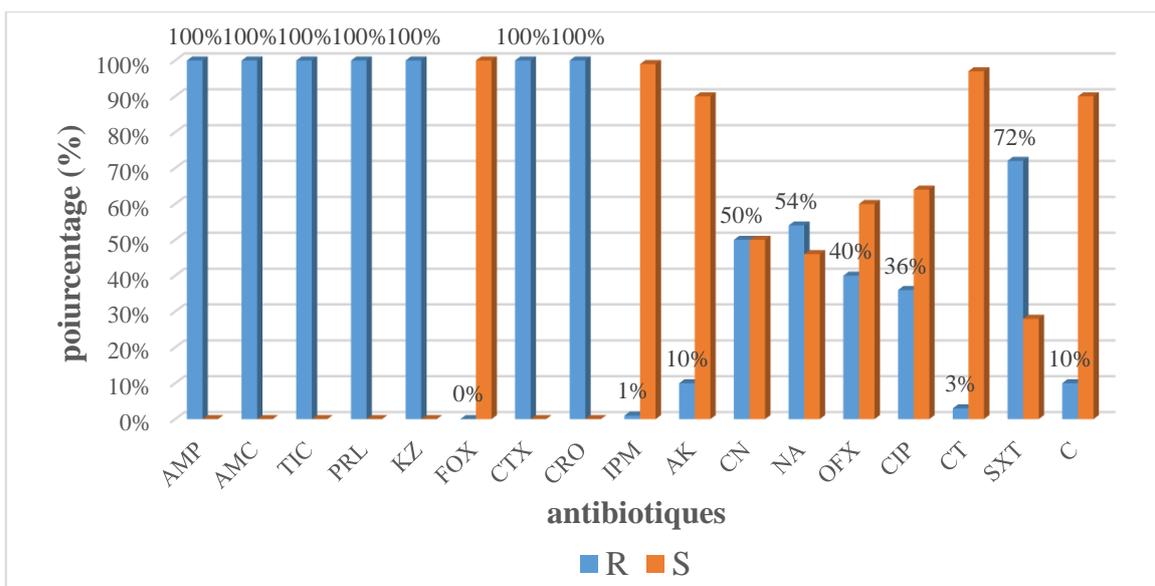


Figure 35 : Profil de résistance et de sensibilité de *Klebsiella pneumoniae* BLSE (+) (n=112)

7.2. Profil de résistance d'*Escherichia coli* BLSE (+)

Comme indiqué dans la figure 36, le profil de résistance d'*Escherichia coli* aux antibiotiques a montré une résistance importante de 100% aux pénicillines (AMP, AMC, TIC, PRL) et aux céphalosporines de 1^{ère} et de 3^{ème} génération (KZ, CTX et CRO), suivie d'une résistance assez élevée de 79% à l'NA, de 74% au SXT, une résistance aux quinolones de 63% et 62% respectivement aux OFX et CIP.

Cette souche a été généralement sensible au C (22%) et à l'AK (11%), par contre on note une résistance très faible à l'IPM et à la CT (2% et 5% respectivement).

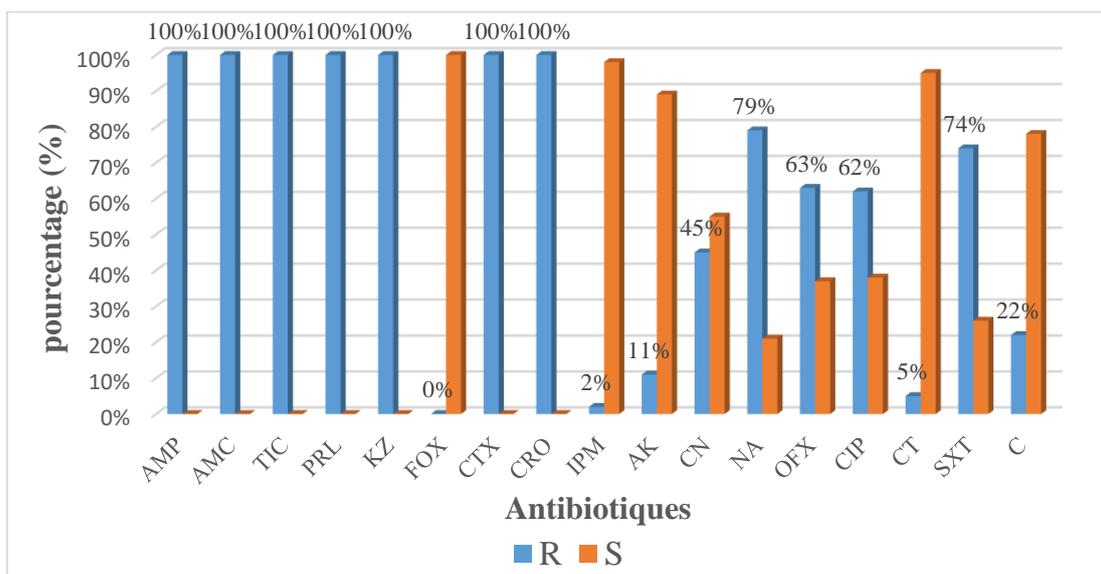


Figure 36 : Profil de résistance et de sensibilité d'*Escherichia coli* BLSE (+) (n=105)

7.3. Profil de résistance d'*Enterobacter spp.* BLSE (+)

La figure ci-dessous montre que les souches d'*Enterobacter spp.* présentent une résistance totale (100%) à AMP, AMC, KZ, CTX et CRO, une résistance élevée vis-à-vis de TIC et PRL (92%).

Une faible résistance de 17% observée vis-à-vis du C et l'AK. En revanche l'IPM et la CT restent très actifs (8%).

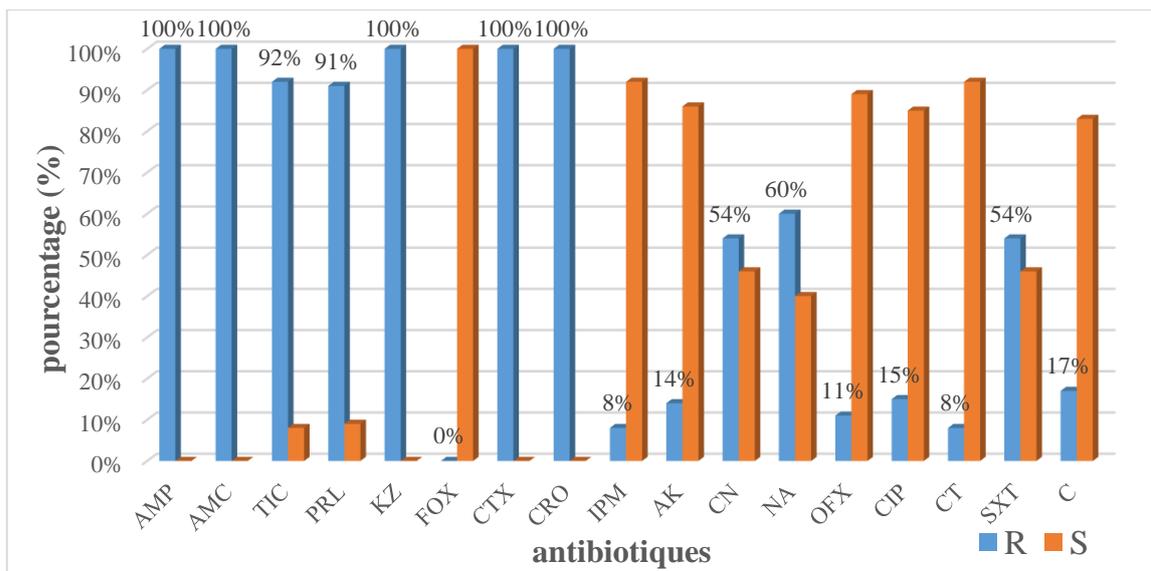


Figure 37 : Profil de résistance et de sensibilité d’*Enterobacter spp.* BLSE (+) (n=13)

7.4. Profil de résistance de *Proteus spp.* BLSE (+)

La figure ci-dessous montre que *Proteus* présente une résistance totale à l’AMP, l’AMC, KZ, CTX, CRO, NA et SXT.

Une résistance très élevée aux TIC, PRL et CT (91%).

Une faible résistance est observée au C (33%) et à l’AK (14%).

Proteus est totalement sensible vis-à-vis l’IPM et FOX. En revanche une résistance importante est observée à l’OFX (80%).

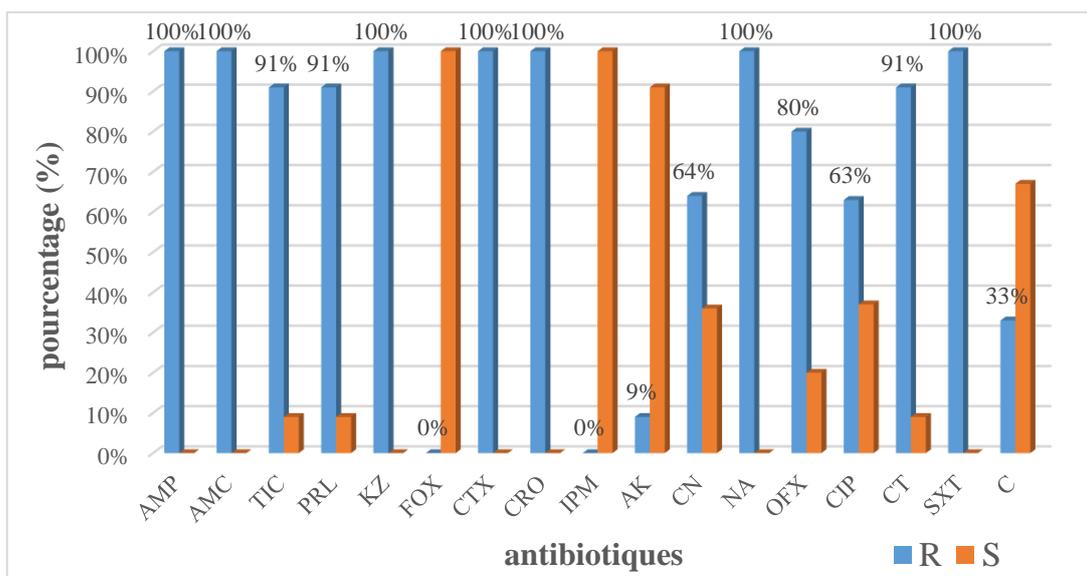


Figure 38 : Profil de résistance et de sensibilité de *Proteus spp.* BLSE (+) (n=11)

7.5. Profil de résistance de *Citrobacter spp.* BLSE (+)

Le profil de résistance de *Citrobacter spp.* aux antibiotiques (figure 39) a montré une résistance totale aux pénicillines (AMP, AMC, TIC et PRL), aux céphalosporines de 1^{ère} et 3^{ème} génération (CRO et CTX) ainsi qu'une résistance importante aux NA, OFX et SXT (67%, 60% et 60% respectivement) (résistances associées).

Ces souches ont été généralement sensibles au CN (20%), en revanche, l'IPM, FOX, AK, CT et C restent très actifs (0% de résistance).

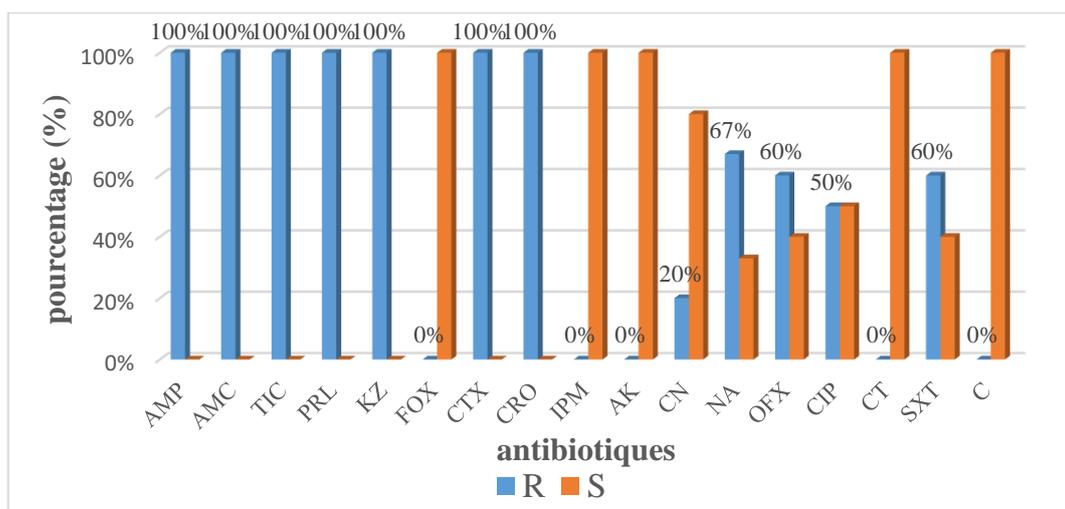


Figure 39 : Profil de résistance et de sensibilité de *Citrobacter spp.* BLSE (+) (n=5)

7.6. Profil de résistance de *Serratia spp.* BLSE (+)

La figure ci-dessous indique que *Serratia* présente une résistance totale à l'AMP, AMC TIC, PRL, KZ, CTX, CRO, ainsi qu'à la CN.

Le taux de résistance à la CT est de 80% et de 67% au NA.

La résistance à l'IPM est observée chez une seule souche du genre *Serratia* avec un pourcentage de 20%.

On note que l'AK et la FOX sont les antibiotiques les plus actifs avec une sensibilité totale (100%).

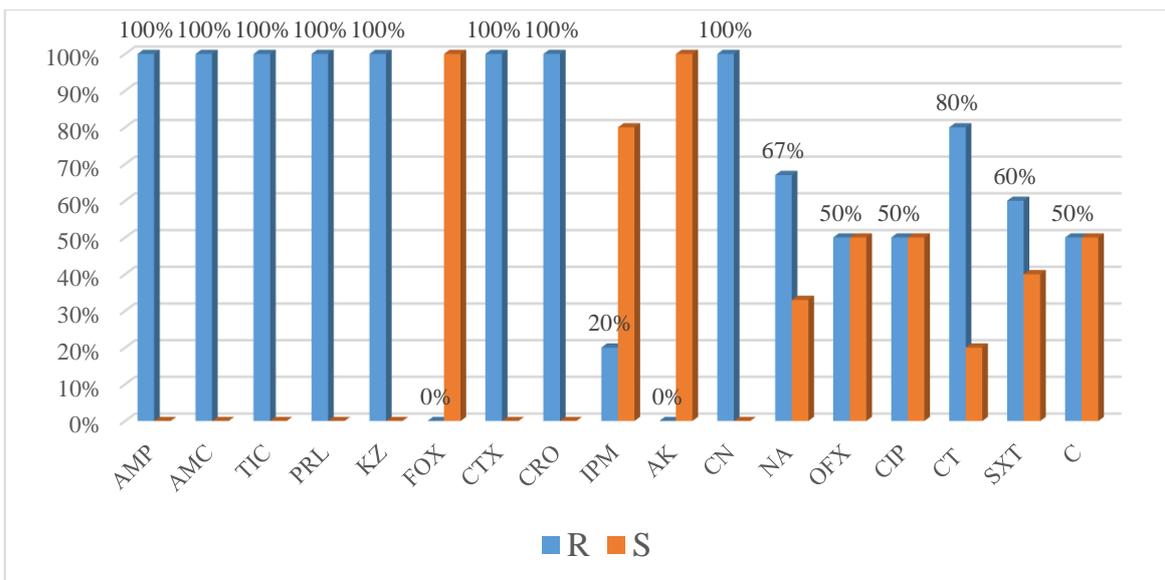


Figure 40 : Profil de résistance et de sensibilité de *Serratia spp.* BLSE (+) (n=5)

7.7. Profil de résistance de *Morganella morganii* BLSE (+)

La figure 41 montre une résistance totale à l'AMP, TIC, PRL, KZ, CTX, CRO, CN et SXT. En revanche, la FOX, l'IMP et l'AK exercent une importante activité sur les souches de *Morganella morganii* vue que la résistance est nulle vis-à-vis ces derniers.

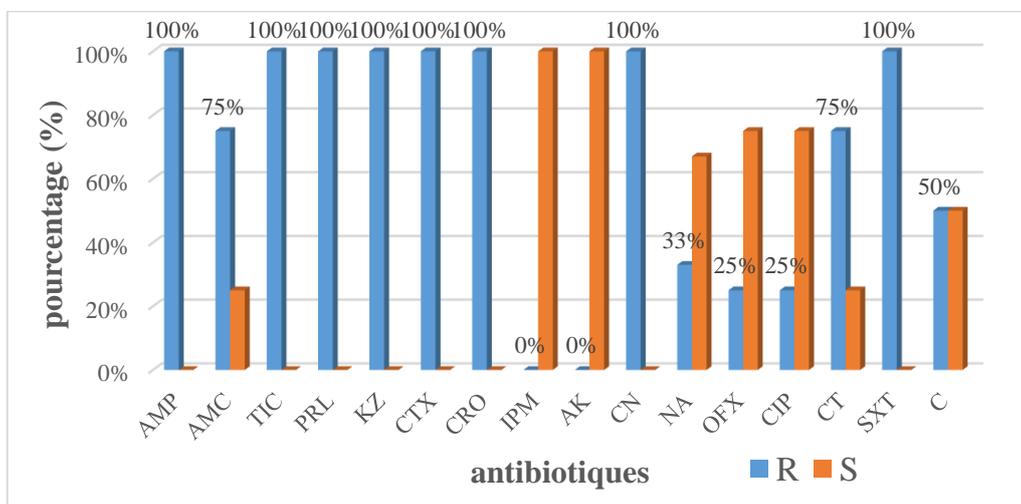


Figure 41 : Profil de résistance et de sensibilité de *Morganella morganii* BLSE (+) (n=4)

8. Profil de résistance des souches d'entérobactéries productrices de BLSE selon l'origine

8.1. Profil de résistance des souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées chez les patients externes

La figure 42 montre que les souches d'E-BLSE isolées de malades consultant en externe sont totalement résistantes à l'AMP, AMC, TIC, PRL, KZ, CRO et CTX. En revanche, la FOX enregistre un taux de résistance nul. L'IPM, l'AK et la CT conservent une excellente activité vis-à-vis des souches externes avec des taux respectifs de 4%, 8% et 7%.

Une résistance élevée est observée vis-à-vis du SXT (74%) et NA (65%).

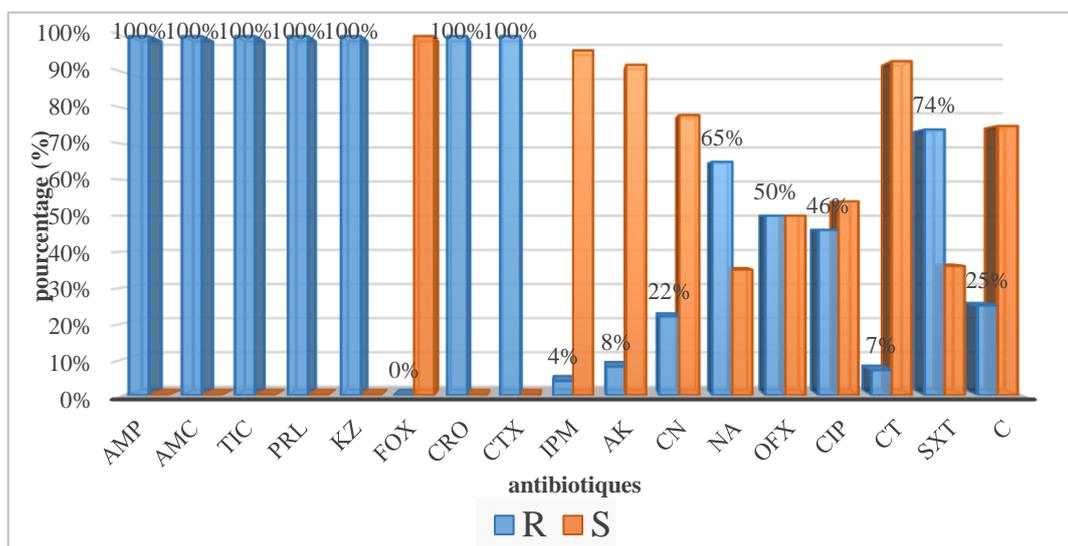


Figure 42 : profil de résistance des souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées chez les patients externes (n=27)

8.2. Profil de résistance des souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées chez les patients hospitalisés

Le taux de résistance des E-BLSE aux bêta-lactamines est de 100%, à l'exception de l'IPM qui reste très actifs avec 2% de résistance.

Une résistance élevée est observée vis-à-vis des quinolones et fluoroquinolones avec des taux de 67%, 50% et 47% pour NA, OFX et CIP respectivement.

Par contre, l'AK, la CT et le C conservent une bonne activité, avec des taux respectifs de 10%, 10% et 17%.

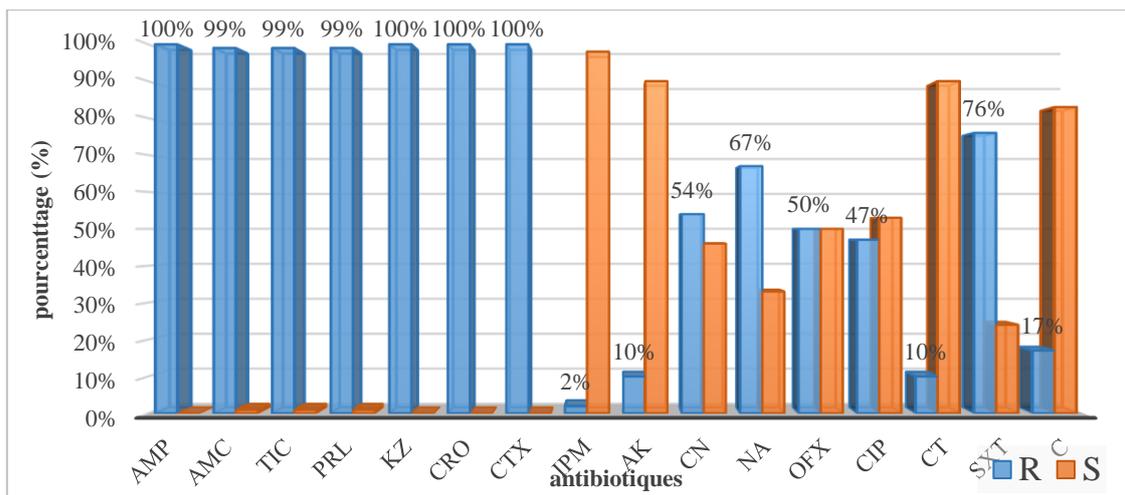


Figure 43 : profil de résistance des souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées chez les patients hospitalisés (n=234)

DISCUSSION

Discussion :

Les entérobactéries constituent une famille très importante en pathologie humaine. Cette importance est due aussi bien au monde d'espèces bactériennes qui la composent, qu'à leur incidence au niveau de la santé des populations.

Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections telles que : les méningites, les infections urinaires, les gastroentérites sévères et mortelles surtout chez l'enfant (*Escherichia coli*) (Diallo, 2013).

Elles sont également incriminées dans les infections respiratoires sévères et dans les infections nosocomiales (*Klebsiella pneumoniae*) (Sekhri-Arafa, 2011).

Durant notre étude (prospective et rétrospective), 751 souches d'entérobactéries ont été isolées dont 261 souches d'E-BLSE avec un taux de 35%.

Dans l'ensemble des entérobactéries isolées, *Escherichia coli* reste l'espèce la plus fréquente (51%), suivie par *Klebsiella pneumoniae* (21%), comme cela été rapporté par plusieurs études (Messai *et al.*, 2007 ; Guembe *et al.*, 2008 ; Agabou *et al.*, 2014).

Selon les résultats de notre étude, les souches isolées sont réparties différemment selon les sites de prélèvement. L'infection urinaire est une pathologie fréquente en pratique quotidienne avec un taux de 45%. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés dans la littérature au Cameroun (Gangoue-Piéboji, 2007) indiquant 49%. Par contre, ces fréquences sont plus faibles que celles rapportées au Mali (Diouara, 2007) indiquant 57%.

Nos résultats montrent également la présence des entérobactéries isolées dans le pus avec une fréquence importante de 45%.

Par ailleurs, la plus grande fréquence d'entérobactéries provient essentiellement des patients hospitalisés avec une prédominance de 82% contre 12% de patients externes.

La prédominance était masculine où les hommes, avec un taux de 56%, étaient plus touchés que les femmes avec un taux de 44% et un sexe ratio de 1,27, ceci est en accord avec les résultats constatés à Bamako (Mali), où les entérobactéries ont été majoritairement isolées chez les patients de sexe masculin (57,1%) (Sangare *et al.*, 2016). En revanche, nos résultats ne concordent pas avec ceux rapportés au Maroc (Benhiba *et al.*, 2015) et au Sénégal (Lo *et al.*, 2014) rapportant 47% et 47,3% respectivement.

Dans notre étude, les entérobactéries ont été retrouvées dans tous les types de services. Cependant, certaines spécialités sont apparues plus concernées dont la médecine interne et la chirurgie générale avec 16% et 15% respectivement.

Concernant le profil de résistance des entérobactéries aux antibiotiques, depuis le début des années 60, nous assistons à une augmentation du nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques, surtout en milieu hospitalisé et à l'émergence de nouvelles résistances.

Les entérobactéries résistent souvent à de multiples antibiotiques en raison d'une résistance intrinsèque et/ou d'une résistance acquise (par exemple l'acquisition de plasmides).

Pour les bêta-lactamines, la majorité des entérobactéries isolées à l'HUMRC étaient hautement résistantes aux pénicillines avec un taux de résistance de 64% à l'AMC et 78% au PRL. Au Cameroun, **Gangoué-Piéboji** retrouvait 63% des souches d'entérobactéries résistantes à l'AMC et 74% de souches résistantes au PRL (**Gangoué-Piéboji et al., 2006**).

Ces résistances acquises sont d'une part la conséquence de la pression de sélection due au large usage de ces antibiotiques et de leur déterminisme génétique qui fait qu'elles ont un grand pouvoir de dissémination et d'une part liée à l'émergence et à l'extension de mécanismes de résistance liée à la sécrétion de bêta-lactamases qui hydrolysent le noyau bêta-lactame des molécules (**Prères et al., 2004**).

La résistance aux céphalosporines de 1^{ère} génération est également élevée, elle est de 60% pour KZ, cette fréquence est proche de celle indiquée dans la littérature (**Gangoué-Piéboji, 2007**) avec 75%.

Concernant les céphalosporines de 3^{ème} génération, le céfotaxime conserve une bonne activité (35%), cette fréquence est proche de celle indiquée par (**Gangoué-Piéboji et al., 2006 ; Mansour et al., 2009**) indiquant 27,1%, 23% respectivement et plus importante que celle de (**Mkaouar et al., 2007**) avec 15%, et inférieure à celle indiquée par (**Mezghani et al., 2012**) 87,1%.

Les données de nombreuses études ont montré que l'exposition aux céphalosporines à large spectre est un facteur de risque pour l'émergence de résistance à ces produits. Ceci est particulièrement problématique, puis que le développement de la résistance au C3G est associé avec l'augmentation de mortalité, de la durée d'hospitalisation et l'augmentation des charges hospitalières (**Rice et al., 2000**).

L'imipenème et l'amikacine avaient une bonne activité sur les souches d'entérobactéries (1% et 5% respectivement). Cette tendance a également été retrouvée en Espagne (**Guembe *et al.*, 2008**). Par contre, en Iran, Hashemi *et al* retrouvaient des taux plus élevés de résistance de l'ordre de 19% pour l'imipenème et 30% pour l'amikacine (**Hashemi *et al.*, 2013**).

Pour les quinolones, les résultats de notre étude indiquent que 48% des souches d'entérobactéries sont résistantes à l'acide nalidixique, cette fréquence est en accord avec celle rapportée par (**Mansour *et al.*, 2009**) avec 43,86%. En revanche, cette fréquence est inférieure à celle rapportée dans la littérature (**Akortha *et al.*, 2009**) indiquant 15,1%.

L'émergence de la résistance des entérobactéries à l'acide nalidixique constitue le principal problème lié à leur utilisation. Cette résistance fait intervenir différents mécanismes dont le plus fréquent est la modification des cibles, ADN Gyrase et/ou Topoisomirase IV par mutation ponctuelle d'un acide aminé (**Nandou, 2005**).

Les résultats concernant le SXT montrent une fréquence de 55%, ces résultats sont proches de ceux rapportés par (**Mansour *et al.*, 2009**) indiquant 45,4% et inférieur à ceux rapportés dans la littérature (**Gangoue-Piéboji, 2007 ; Yanat *et al.*, 2008**) avec 73% et 79% respectivement. En revanche, ces résultats sont plus importants que ceux rapportés par les auteurs (**Akortha *et al.*, 2009**) avec 18,8%.

Les bactéries productrices de BLSE constituent une préoccupation majeure en milieu hospitalier en raison de leur diffusion épidémique et de leur multirésistance aux antibiotiques.

En effet, les BLSE sont retrouvées chez une vaste proportion de bacilles à Gram négatif, mais les entérobactéries représentent les germes les plus incriminés (**Brolund, 2014**).

Selon notre étude, la fréquence globale d'isolement des E-BLSE est de 35%. Ce taux reste proche de celui rapporté en Algérie (37,1%), en Tunisie (30,8%) et à Rabat (18,53%) (**Djahida et Drissi, 2011 ; Messai *et al.*, 2007 ; Foulal et Zouhdi, 2013**).

Cette prévalence correspond à peu près à celle retrouvée dans certaines études nationales publiées jusqu'alors au Nord d'Algérie, où des prévalences élevées ont été rapportées, soit 39.2% à Tlemcen (**Baba Ahmed-KaziTani *et al.*, 2013**), et 31.4% à Annaba (**Nedjai *et al.*, 2012**).

En revanche, ce taux est supérieur à celui rapporté au Maroc avec une fréquence de 9% (**Lahlou *et al.*, 2009**).

Les entérobactéries productrices de BLSE chez les patients hospitalisés et dans les communautés varient largement entre les pays et les spécimens, mais sont courantes en Afrique (**ECDPC, 2015**).

Les infections à E-BLSE sont plus fréquentes chez le sexe masculin que féminin avec un sexe ratio de 1,74. Cette prédominance masculine reste controversée, alors que des études l'ont confirmée (**Leotard et Negrin, 2010 ; Foulal et Zouhdi, 2013**), d'autres ont rapporté une prédominance féminine (**Nedjai et al., 2012 ; Guðjónsdóttir, 2014 ; Lagha, 2015**). Ces différences peuvent refléter les disparités régionales dans les pratiques de prescription d'antibiotiques liées au sexe (Exemple : traitement des cystites chez les femmes) (**Behar et al., 2008**). En effet, notre étude a été menée dans un hôpital militaire qui reçoit surtout des patients de sexe masculin.

Les E-BLSE sont essentiellement nosocomiales (90%), provenant en grande proportion (18%) de patients hospitalisés en chirurgie générale. Ce taux reste proche de celui rapporté en France et à Rabat avec des taux respectifs de 20% et 23% (**Foulal et Zouhdi, 2013 ; Jarlier et Arnaud, 2012**). Cette augmentation de fréquence peut être expliquée par l'utilisation systématique de l'antibioprophylaxie chirurgicale.

Par ailleurs, 10% des E-BLSE ont été isolées chez des patients consultant à titre externe. L'émergence autonome de BLSE dans la communauté a été notée dans plusieurs études. De ce fait, l'augmentation des entérobactéries sécrétrices de BLSE est maintenant observée partout dans le monde non seulement dans les infections nosocomiales, mais aussi dans les infections communautaires (**Pitout et Laupland, 2008**).

Concernant la répartition des E-BLSE selon les sites infectieux, 49% des entérobactéries productrices de BLSE sont isolées du pus et 32% sont issues d'infections urinaires, Ces taux restent proches de ceux rapportés par Agabou *et al* à Constantine avec des taux de 49% et 39% (**Agabou et al., 2014**).

D'après les résultats de notre étude, 83% des E-BLSE recensées étaient des souches de *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Cela concorde avec les résultats de plusieurs études qui ont mis en évidence que ces deux espèces étaient les plus fréquemment responsables de la production des BLSE (**Lahlou et al., 2009 ; El Bouamri et al., 2014 ; Fouquet et al., 2017**).

Généralement, la prévalence globale de la production de BLSE a varié considérablement selon les zones géographiques des pays et dans différentes structures hospitalières.

Le profil de résistance a montré une résistance totale vis-à-vis de toutes les bêta-lactamines testées à l'exception de la céfoxitine. Ce résultat est caractéristique des BLSE. Le même constat a été rapporté par Ramdani-Bouguessa dans une étude menée au Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha Pacha à Alger (**Ramdani-Bouguessa *et al.*, 2011**).

Les entérobactéries productrices de BLSE sont par ailleurs connues pour leurs co-résistances aux autres classes d'antibiotiques, ce qui limite fortement l'arsenal thérapeutique et accroît le risque d'impasse en matière de traitement (**Leotard et Negrin, 2010**). Le niveau élevé de ces co-résistances observé dans notre étude, concorde avec des études antérieures impliquant le transfert de plasmides entre les espèces bactériennes par acquisition de matériel génétique responsable de la résistance aux antibiotiques (**Paterson, 2006**). Cette situation est la conséquence de la pression de sélection due à la prescription démesurée et l'usage parfois abusif des antibiotiques à large spectre aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire (délivrance officinale sans ordonnance, automédication, échantillon gratuit, ...), sans oublier l'impact de l'alimentation peu contrôlée et où de plus en plus d'antibiotiques sont utilisés en agriculture et dans l'élevage.

L'incidence d'apparition des résistances des BLSE aux aminosides a augmenté considérablement chez les souches productrices de BLSE (**Spanu *et al.*, 2002**). Dans notre étude, la résistance des souches BLSE à la Gentamicine est de 51%, tandis que la résistance est moindre à l'Amikacine (10%). Celle-ci reste l'aminoside le plus efficace, comme cela a été rapporté dans plusieurs études (**Wu *et al.*, 2007**).

Arpin et ses collaborateurs avaient mentionné un taux moins important de résistance à la Gentamicine (29%), mais un taux de résistance plus important à l'Amikacine (51%) (**Arpin *et al.*, 2009**). Tandis qu'une étude menée au Bénin au début de 2015, a rapporté des taux de résistances plus importants à la Gentamicine (82%) et à l'amikacine (72%) (**Anago *et al.*, 2015**).

Il apparaît, dans nos résultats comme dans d'autres études, que l'Amikacine est moins touchée que la gentamicine, mais le taux de résistance à cette molécule ne cesse d'augmenter en raison de sa large prescription (**Morosini *et al.*, 2006 ; Chanoine et Jarlier, 2008**).

L'association Triméthoprime-Sulfaméthoxazole présente une forte activité sur les entérobactéries productrices de BLSE, avec 76% de résistance, ce taux reste proche des données de la littérature. En effet, à Rabat un taux de résistance de 77% a été observé en 2013 (**Foulal**

et Zouhdi, 2013), 75% en Iran en 2014 (**Gholipour et al., 2014**). Des taux aux alentours de 92% ont été rapportés en Suisse et en Algérie (**Djahida et Drissi, 2011 ; Cherkaoui et al., 2014**).

Le taux de résistance à la ciprofloxacine rapporté dans notre étude est de 47%. Ce taux est proche de ceux rapportés en Iran en 2014 avec un taux de 45% (**Gholipour et al., 2014 ; Anago et al., 2015**).

Des autres études menées à Rabat, et en Suisse indiquent des taux respectifs de 75% et 93% (**Cherkaoui et al., 2014 ; Foulal et Zouhdi, 2013**). Ce taux atteint même 100% dans une étude menée en 2015 au Benin. Le taux élevé de co-résistance des E-BLSE aux quinolones dans le monde entier compromet l'utilisation de cette classe d'anti-infectieux très utilisée en pratique quotidienne. Ceci peut être essentiellement expliqué ; d'abord par l'utilisation massive de ces antibiotiques pour traiter en 1^{ère} intention les infections urinaires sans documentation préalable. Et en second lieu par l'émergence récente de 3 mécanismes de résistance plasmidique aux fluoroquinolones qui sont : le gène Quinolone résistance « *qnr* », les gènes codant respectivement pour une N-acétyltransférase, ACC-(6')-Ibcr et les gènes codant pour la pompe d'efflux QepA (**Nordmann et Poirel, 2005**).

Pendant longtemps, la résistance des entérobactéries aux carbapénèmes est restée marginale avec des taux de sensibilité de 99 à 100% (**Wolff et al., 2009**), faisant des carbapénèmes le traitement de choix contre les E-BLSE (**Gülmez et al., 2008**). Malheureusement, l'utilisation abusive de ces molécules a entraîné l'émergence de résistances à ces antibiotiques, notamment chez *Klebsiella pneumoniae* (**Chevet et al., 2012**). Dans notre étude, le taux de résistance à l'Imipénème est de 2% seulement. Les carbapénèmes demeurent ainsi les molécules de choix dans le traitement d'une infection à E-BLSE en association avec l'Amikacine. Cependant, il est essentiel d'insister sur l'usage rationnel des carbapénèmes.

Le taux de résistance à l'Imipénème observé dans notre étude est presque proche de ceux rapportés en Iran, au Benin et à Rabat avec des taux de résistance respectifs : 0%, 3,40%, et 3,44% (**Foulal et Zouhdi, 2013 ; Gholipour et al., 2014 ; Anago et al., 2015**). Cependant, en suisse, le taux de résistance rapporté en 2014 est alarmant avec 80% d'entérobactéries BLSE résistantes à l'Imipénème (**Cherkaoui et al., 2014**).

Cette baisse de la sensibilité pourrait être le résultat d'une modification des porines, associée à la production de bêtalactamases de type BLSE, diminuant ainsi la perméabilité de la membrane externe (**Bennett et al., 2010**), ou, plus inquiétant encore, la production de

carbapénémases (**Pasteran et al., 2008**), rendant le traitement des infections causées par les E-BLSE difficile et limitant les choix thérapeutiques (**Chevet et al., 2012**).

Parmi les molécules substitutives des carbapénèmes proposées pour le traitement des infections à E-BLSE, on peut citer les C4G, les céphamycines, l'association bêtalactamine-inhibiteur de bêtalactamases et la tigécycline. Malgré le rôle important que peuvent jouer ces molécules dans le traitement des infections à E-BLSE, peu de données cliniques sont disponibles et donc l'activité de ces molécules reste sous-évaluée. Les nouvelles recommandations de l'EUCAST (European committee for antibiotic susceptibility) pour l'interprétation des antibiogrammes des isolats d'E-BLSE ont déclaré les C3G et C4G pleinement actives après la détermination de leurs concentrations minimales inhibitrices (**CASF, 2015**).

Les niveaux de co-résistance sont élevés pour toutes les espèces bactériennes productrices de BLSE. Concernant *Klebsiella pneumoniae*, la résistance aux aminosides était assez marquée pour la gentamicine avec un pourcentage de 50%, alors que l'Amikacine présente un taux de résistance de 10%.

En Arabie Saoudite en 2014, des taux presque proches ont été rapportés, avec 62% à la gentamicine, et 7% à l'Amikacine (**Somily et al., 2014**). Dans une thèse de doctorat en médecine menée à Fès en 2013, un taux important de résistance à la gentamicine a été rapporté (80%), alors qu'aucune résistance n'a été signalée pour l'Amikacine (**Elbrahmi, 2013**). En Algérie, en 2014, un taux de résistance supérieur au nôtre a été rapporté pour la gentamicine (67%). Cependant, le taux de résistance à l'Amikacine était plus important (52%) (**Belbel et Chettibi, 2014**).

Nous rapportons un taux de résistance à l'Imipénème de 2% au sein de l'espèce *Klebsiella pneumoniae*. Ce taux est supérieur à celui rapporté à Fès en 2013 et en Algérie en 2014, où aucune résistance à l'Imipénème n'a été rapportée (**Belbel et Chettibi, 2014 ; Elbrahmi, 2013**).

Le taux de résistance à l'association Triméthoprime-Sulfaméthoxazole dans notre étude est de 72% chez *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE. Ce taux est proche de ceux rapportés en Algérie en 2014 (79%), valeur moins importante que celles rapportées à Fès en 2013 (89,6%), mais demeure supérieure à celle rapportée en Arabie Saoudite en 2014 (59%) (**Belbel et Chettibi, 2014 ; Elbrahmi, 2013 ; Somily et al., 2014**).

Le taux de résistance de *Klebsiella pneumoniae* BLSE à la ciprofloxacine reste faible (36%) ; des taux plus importants ont été rapportés également en Algérie, à Fès et en Arabie Saoudite en 2014 avec des taux respectifs de 70%, 72% et 50% (**Belbel et Chettibi, 2014 ; Elbrahmi, 2013 ; Somily et al., 2014**).

La résistance aux aminosides marquée chez *Escherichia coli* est similaire chez *Klebsiella pneumoniae* avec des taux respectifs de 10% et 45% chez *Escherichia coli* pour l'amikacine et la Gentamicine.

Un taux de résistance moins important a été rapporté pour la Gentamicine en Arabie Saoudite avec un taux de 47% (**Somily et al., 2014**). Alors que le taux de résistance à l'Amikacine est moins important en Arabie Saoudite (3,83%). Selon une étude menée à Fès en 2013, le taux de résistance à l'amikacine d'*Escherichia coli* était de 12.2%, proche de celui rapporté dans notre travail, alors que le taux de résistance à la gentamicine est plus important (60.2%) que le nôtre (**Elbrahmi et Elrhazi, 2013**).

Le taux de résistance à l'association Triméthoprime-Sulfaméthoxazole dans notre étude est de 74% chez *Escherichia coli* BLSE. Ce taux est proche de ceux rapportés en littérature, avec un taux allant de 67% à 80% selon les études (**Goyal et al., 2009 ; Severin et al., 2010 ; Elbrahmi, 2013 ; Somily et al., 2014**).

La résistance à la ciprofloxacine est plus marquée chez *Escherichia coli* que chez *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de 62%. Des taux proches ont été rapportés à Fès et en Arabie Saoudite avec des taux respectifs de 68,5% et 74,5% (**Somily et al., 2014 ; Elbrahmi, 2013**). Alors que ce taux est inférieur à celui rapporté par **Goyal** en 2009 en Inde avec environ 93,8% de résistance (**Goyal et al., 2009**).

La connaissance du profil épidémiologique local des E-BLSE ainsi que leur niveau de résistance actuel aux antibiotiques est nécessaire pour mieux juguler les conséquences thérapeutiques et adapter le protocole d'antibiothérapie de ces infections aux données épidémiologiques locales.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi constituent, dans notre établissement, un risque infectieux croissant avec des niveaux élevés de résistance aux antibiotiques aussi bien à l'hôpital qu'en communauté, et l'émergence de la résistance aux molécules d'ultime recours en thérapeutique antibactérienne, à savoir, les carbapénèmes. Ils peuvent conduire, dans nombre de cas à une impasse thérapeutique.

Ce phénomène de multirésistance aux antibiotiques est un problème majeur de santé publique, inquiétant et alarmant du fait des risques potentiels (morbi-mortalité augmentée, surcoûts économiques et installation de bactéries hautement résistantes dans les services hospitaliers).

La répartition des souches d'entérobactéries productrices de BLSE montre que les fréquences les plus élevées sont enregistrées chez *Klebsiella pneumoniae* avec 43% suivie d'*Escherichia coli* avec 40%.

Les services les plus touchés sont ceux de la chirurgie générale, d'orthopédie et de médecine interne. Les personnes de sexe masculin sont les plus infectés par les E-BLSE.

Les urines et le pus constituent les types de prélèvements les plus incriminés par les infections aux E-BLSE.

Le problème de résistance aux antibiotiques n'est pas spécifique à l'HUMRC, il s'agit plutôt d'un problème mondial de santé publique extrêmement préoccupant.

Les premières BLSE sont apparues quelques années après l'utilisation accrue des antibiotiques de type céphalosporine de 3^{ème} génération, celle-ci a constitué le principal facteur de risque

Le niveau de résistance des entérobactéries aux antibiotiques est élevé pour certains antibiotiques comme les aminopénicillines et les céphalosporines. Ceci étant en relation étroite avec la production de BLSE.

Les entérobactéries présentent une importante résistance aux quinolones et aux sulfamides tels que l'acide nalidixique et l'ofloxacine. En revanche, l'imipénème et l'amikacine conservent une bonne activité.

Dans ce travail, on estime 35% des souches d'entérobactéries productrices de BLSE.

A l'issue de cette étude et vu l'émergence de la résistance des bactéries aux antibiotiques, il convient de formuler les perspectives suivantes :

Respecter les règles d'hygiène individuelle et collective surtout que les entérobactéries sont naturellement présentes dans le tube digestif humain.

L'usage rationnel des antibiotiques.

Sensibiliser la population à éviter l'automédication qui constitue un risque des échecs thérapeutiques et facilitent l'émergence des résistances bactériennes.

Les laboratoires cliniques doivent se munir des méthodes appropriées pour la détection rapide des BLSE et des micro-organismes producteurs de BLSE.

Il est temps peut être d'automatiser nos laboratoires et l'idéal serait d'aller puiser directement dans le génome grâce aux nouvelles techniques de biologie moléculaire qui devraient être introduites dans le laboratoire et qui permettraient de mieux comprendre l'épidémiologie des souches d'entérobactéries productrices de BLSE.

Finalement, nous avons plus que jamais besoin de nouvelles molécules d'antibiotiques afin de pouvoir continuer à traiter les infections dues aux bactéries productrices de BLSE.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Agabou A, Pantel A, Ouchenane Z, Lezzar N, Khemissi S, Satta D, Lavigne J.P.** 2014. First description of OXA-48-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone ST131 from patients hospitalised at a military hospital in Algeria. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* **33**(9): 1641–1646.
- Akortha E.E, Filgona J.** 2009. Transfer of gentamicin resistance genes among *Enterobacteriaceae* isolated from the outpatients with urinary tract infections attending 3 hospitals in Mubi, Adamawa State. *Scientific Research and Essay*. **4**(8): 745-752.
- Aldred K.J, Kerns R.J, Osheroff N.** 2014. Mechanism of Quinolone Action and Resistance. *Biochemistry* **53**(10): 1565–1574.
- Ambler R P.** 1980. The structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **289**: 321–331.
- Anago E, Ayi-Fanou L, Akpovi C.D, Hounkpe W.B, Agassounon-Djikpo Tchibozo M, Bankole H.S.** 2015. Antibiotic resistance and genotype of β -lactamase producing *Escherichia coli* in nosocomial infections in Cotonou, Benin. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* **14**(1): 5–14.
- Andriole V.T.** 2005 The quinolones: past, present, and future. *Clinical Infectious Diseases* **41**: 113-9.
- Arpin C, Quentin C, Grobost F, Cambau E, Robert J, Dubois V.** 2009. Nationwide survey of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in the French community setting. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **63**(6): 120.
- Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H.** 1992. Bactériologie clinique. Paris : ELLIPSES, 602p.
- Baba Ahmed-Kazi Tani Z, Decré D, Genel N, Boucherit-Otmani Z, Arlet G, Drissi M.** 2013. Molecular and Epidemiological Characterization of Enterobacterial Multidrug-Resistant Strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008–2010). *Microbial Drug Resistance* **19**(3): 185–190.
- Babic M, Hujer A, Bonomo R.** 2006. What's new in antibiotic resistance? Focus on β -lactamases. *Drug Resistance Updates* **9**(3): 142–156.

- Barrial K, Scotet J.** 2006. Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles Gram négatif. Perspective d'évolution. *Tigaud de bactériologie*. 3-10.
- Battraud P.** 2017. La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ! these de doctorat : Sciences Pharmaceutiques, Université de Lille 2, 127p.
- Behar P.R.P, Teixeira P.J.Z, Fachel J.M.G, Kalil A.C.**2008. The effect of control group selection in the analysis of risk factors for extended spectrum bêta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections. A prospective controlled study. *Journal of Hospital Infection* **68**(2): 123–9.
- Belbel Z, Chettibi H.** 2014. Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches *de Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse de doctorat : Microbiologie appliquée : Annaba. Badji Mokhtar Université.140 p.
- Benhiba I, Bouzekraoui T, Zahidi J, Nouraddine E, Ait said L, Warda K, Zahlan K .**2015. Epidémiologie et antibiorésistance des infections à entérobactéries chez l'adulte dans le C.H.U de marrakech et implications thérapeutiques. *Revue Africaine d'urologie et d'andrologie* **1**(4): 166-171.
- Bennett J.W, Mende K, Herrera M.L, Yu X, Lewis J.S, Wickes B.L.** 2010. Mechanisms of carbapenem resistance among a collection of *Enterobacteriaceae* clinical isolates in a Texas city. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **66**(4): 445–8.
- Bidet P, Bingen E.** 2011. Bactériologie Médicale. Elsevier Masson SAS: 2^{ème} édition **34**: 331-427.
- Bonomo, R. A.** 2016. β -Lactamases : A Focus on Current Challenges. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* **7**(1): 1-13.
- Boujemaa, D.** 2015. Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae*. Thèse de doctorat. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid–Tlemcen. 133p.
- Bourjilat F, Dersi N, Bouchrif B, Amarouch H, Timinouni M.** 2009. Profil de résistance aux antibiotiques des Escherichia coli uropathogènes communautaires au Maroc. *European Journal of Scientific Research* **38**: 57-62.
- Bradford PA.** 2001. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews* **14**(4): 51–933.

- Brolund, A.** 2014. Overview of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* from a Nordic perspective. *Infection Ecology & Epidemiology* **4**(1): 24555.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA.** 1995. A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1995 **39**(6): 1211–33.
- Bush, K.** 2013. Proliferation and significance of clinically relevant β -lactamases. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1277**(1): 84–90.
- Carle S.** 2009. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! *Pharmactuel* **42**: 6–21.
- Cattoir V.** 2012. Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Rev Francoph Lab* **445**: 79-87.
- Chanoine N M.H, Jarlier V .**2008. Extended-spectrum bêta-lactamases in long-term-care facilities. *Clinical Microbiology and Infection* **14**(1): 111–6.
- Chanoine N.** 2012. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : où sont les dangers ?. *Réanimation* **21**(3), 260–267.
- Cherkaoui A, Emonet S, Renzi G, Riat A, Greub G, Schrenzel J.** 2014. ESBL and carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. *Revue Médicale Suisse* **12**; **10**(450): 2142–8.
- Chevet K, Guyot K, Mellon G, Vidal B, Couzigou C, Misset B .**2012. Phenotypic detection of carbapenemase associated with extended-spectrum bêta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae*. *Médecine et Maladies Infectieuses* **42**(1): 33–5.
- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.** 2015. Recommandations Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
- Comte D, Petitpierre S, Spertini F, Bart P.-A.** 2012. Allergie aux b-lactamines. *Revue Médicale Suisse* **8** : 836-42.
- Courvalin P LR, Bingen E.** Antibiogramme. ESKA, Paris : 2006.
- Courvalin P, Denis F, Privat De Garilhe M, Trieu-Cuotp, Ploy M-C,** 2001. « ANTIBIOTIQUES », *Encyclopædia Universalis* [en ligne], consulté le 9 avril 2019. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/antibiotiques/>

- Diallo Alpha A.** 2013. Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. (En ligne), thèse de doctorat : microbiologie. Université de Toulouse, 191p.
- Diouara M.** 2007. Sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques dans le district de Bamako en 2006. Thèse de pharmacie. Université de Bamako, Mali, 87p.
- Djahida S, Drissi M .**2011. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Thèse de magister : biochimie appliquée. Tlemcen- Algérie : Université Abou Bekr Belkaid, 126p.
- Doi Y, Arakawa Y.** 2007. 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clinical Infectious Diseases* **45**: 88-94.
- Doit C, Mariani-Kurkdjian P, Bingen E.** 2010. Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu. *Archives de Pédiatrie* **17**: S140–S144.
- Dortet L, Bréchard L, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P.** 2014. Strategy for Rapid Detection of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **58**(4) : 2441–2445.
- Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V.** 2008. Phenotypic detection of extended spectrum β -lactamase production in *Enterobacteriaceae*: review and bench guide. *Clinical Microbiology and Infection*. **14**(1) :90–103.
- El Abdani S.** 2016. Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie. Thèse de doctorat. Université Mohammed V-Rabat, 129p.
- El Bouamri MC, Arsalane L, Kamoun Y, Berraha M, Zouhair S.** 2014. Evolution récente du profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de β -lactamases à spectre élargi à Marrakech, Maroc. *Progrès en Urologie* **24**(7): 451–5.
- Elbrahmi R.** 2013. Profil Epidémiologique Et De Resistance Des Bacteries Multi Résistantes Au Chu Hassan Ii De Fès. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah – Fès, p 111.
- European Centre for Disease Prevention and Control.** 2015. Annual epidemiological report 2014: Antimicrobial resistance and health care associated infections. *European Centre for Disease Prevention and Control Stock*.

- Foulal L.** 2013. Profil Épidémiologique Des Entérobactéries Sécrétrices De Bêta Lactamases À Spectre Élargi Diagnostiquées Au Sein Du Laboratoire De Microbiologie Du Chu De Rabat. Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V- Souissi. 110p.
- Fouquet M, Morange V, Bruyère F.** 2017. Évolution sur cinq ans désinfections à germes produisant une β -lactamase à spectre étendu. *Progrès en Urologie*, **22**(1): 17–21.
- Gangoue-Piéboji J, Koulla-Shiro S, Ngassam P, Adiogo D, Ndumbe P.** 2006. Antimicrobial activity against gram negative bacilli from Yaounde Central Hospital, Cameroon. *African Health Sciences* **6**(4): 232–5.
- Gangoue-pieboji J.** 2007. caractérisation des bêta-lactamase et leur inhibition par les extraits des plantes médicinales [En ligne]. Thèse de doctorat : biochimies. France : Université de liège, 104p.
- Germovsek E, Barker C.I, Sharland M.** (2016). What do I need to know about aminoglycoside antibiotics? *Archives of Disease in Childhood - Education & Practice Edition* **102**(2), 89–93.
- Gholipour A, Soleimani N, Shokri D, Mobasherizadeh S, Kardi M, Baradaran A.** 2014. Phenotypic and Molecular Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamase Produced by *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* Isolates in an Educational Hospital. *Jundishapur Journal of Microbiology* **7**(10): 11-758.
- Giani T, Antonelli A, Caltagirone M, Mauri C, Nicchi J, Arena F, Nucleo E, Bracco S, Pantosti A.** 2017. Evolving bêta-lactamase epidemiology in *Enterobacteriaceae* from Italian nationwide surveillance, October 2013: KPC-carbapenemase spreading among outpatients. *Euro Surveill* **22**(31): 84–90.
- Goyal A, Prasad K.N, Prasad A, Gupta S, Ghoshal U, Ayyagari A.** 2009. Extended spectrum betalactamases in *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* & associated risk factors. *Indian Journal of Medical Research* **129**(6): 695–700.
- Grare M.** 2009. De la genèse d'une nouvelle classe d'antibactériens à base de polyphénols cycliques de type calixarène. Etudes moléculaire(s), cellulaire(s), et structurale(s) en vue de l'identification des cibles d'action : le cas du paraganidinoéthylcalix[4]arène. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy-I.

- Guðjónsdóttir H.B.** 2014. Extended spectrum bêta-lactamase (ESBL) genotypes in *Escherichia coli* from patients at the Landspítali University Hospital in Iceland from 2006-2012. Thèse de magister : Sciences biomédicales. Islande : université d'Islande, 44 p.
- Guembe M, Cercenado E, Alcalá L, Marín M, Insa R, Bouza E.** 2008. Evolution of antimicrobial susceptibility patterns of aerobic and facultative gram-negative bacilli causing intra-abdominal infections: results from the SMART studies 2003-2007. *Revista Espanola de Quimioterapia* **21**(3): 166-173.
- Guessennd N, Bremont S, Gbonon V, Kacou-NDouba A, Ekaza E, Lambert T, Dosso M, Courvalin P.** 2008. Qnr-type quinolone resistance in extended-spectrum beta-lactamase producing enterobacteria in Abidjan, *Ivory Coast*. *Pathologie Biologie* **56**: 439–46.
- Gülmez D, Woodford N, Palepou M.FI, Mushtaq S, Metan G, Yakupogullari Y.** 2008. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *International Journal of Atimicrobial Agents* **31**(6): 523–6.
- Hashemi SH, Esna-Ashari F, Tavakoli S, Mamani M.** 2013. The prevalence of antibiotic Resistance of *Enterobacteriaceae* strains isolated in community and Hospital acquired in infections in teaching hospital of Hamadan, west of Iran. *Journal of research in Health Sciences*, **13**(1): 75–80.
- Hooper D.C, Rubinstein E.** 2003. Quinolone antimicrobial agents. *American Society for Microbiology*, p. 485.
- Jacoby G.A, Munoz-Price L.S.** 2005. The New β -Lactamases. *New England Journal of Medicine* **352**(4): 380–391.
- Jarlier V, Arnaud I.** 2014. Surveillance des bactéries multiresistantes dans les établissements de santé français-données 2012. BMR-Raisin groupe de travail : Saint-Maurice *Institut de veille sanitaire* 140p.
- Jehl F, Chomarar M, Weber M, Gerard A.** 2003. De l'antibiogramme à la prescription. Éditions Biomérieux 31-64.
- Khayar Y.** 2011. Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline-acide clavulanique l'Imipenème et l'Ertapénème. Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V, 81p.

- Kohanski M.A, Dwyer D.J, Hayete B, Lawrence C.A, Collins J.J.** 2007. A Common Mechanism of Cellular Death Induced by Bactericidal Antibiotics. *Cell* **130**(5): 797–810.
- Krause K.M, Serio A.W, Kane T.R, Connolly L.E.** 2016. Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* **6**(6), a027029.
- Lagha N.** 2015. Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de doctorat. Tlemcen : Universté Abou Bekr Bekaid, 48p.
- Lahlou Amine I, Chegri M, L'Kassmi H.** 2009. Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaire à l'hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. *Antibiotiques*, **11**: 90–96.
- Lambert T.** 2006. Aminosides et bactéries à GRAM négatif. In. **Courvalin P, Leclerck R., Bingen E.** *Antibiogramme*. Paris ESKA 2^{ème} édition **19**:227-46.
- Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, Docquier JD, Chong Y.** 2010. Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *Journal of Microbiological Methods*. **83**: 149–152.
- Leotard S, Negrin N .**2010. Epidemiology of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum bêta-lactamase in Grasse Hospital (2005-2008). *Pathologie Biologie (Paris)* **58**(1): 35–8.
- Liu L-H, Wang N-Y, Wu A Y-J, Lin C-C, Lee C-M, Liu C-P.** 2018. *Citrobacter freundii* bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, **51**(4): 565–572.
- Livermore D.M, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini G.M, Arlet G, Poirel L, Woodford N.** 2007. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **59**(2): 165-174.
- Lo S, Ka R, Ba Diallo A, Diallo OF, Diagne R, Dia ML, Sarr AM, Sow A .**2014. Sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries isolées d'urines au Centre Hospitalier Régional de Saint Louis (Sénégal) de juin 2011 à juillet 2012. *Revue CAMES SANTE* **2**(2): 25-28.
- Madigan M, Martinko J.** 2007. *Biologie des micro-organismes*. 11^{ème} Edition. PEARSON Education, France, p.354-355.

- Mangin L. 2016.** Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.
- Mansour A, Manjijeh M, Zohreh P. 2009.** Study of bacteria isolated from urinary tract infections and determination of their susceptibility to antibiotics. *Jundishapur Journal of Microbiology* **2**(3): 118-123.
- Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby G.A. 1998** Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* **351**: 797-9.
- Mayer K, Opal S, Medeiros A. 2000.** Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition, Churchill Livingstone **2**: 236-253.
- Messai L, Achour W, Ben Hassen A .2007.** Epidemiological profile of enterobacteria isolated from neutropenic patients. *Pathologie Biologie (Paris)* **55**(5): 230–4.
- Mezghani M.S, Rekik M.M, Mahjoubi F, Hammami A. 2012.** Epidemiologie de la resistance à la colistine chez les enterobacteries à Sfax, Tunisie. *Médecine et Maladies Infectieuses* **10**(4): 1-3.
- Mitscher L.A. 2005.** Bacterial Topoisomerase Inhibitors: Quinolone and Pyridone Antibacterial Agents. *Chemical Reviews* **105**(2): 559–592.
- Mkaouar D, Mahjoubi F, Mezghani S, Znazen A, Ktari S, Hammami A. 2007.** Etude de la resistance des enterobacteries aux cephalosporines de troisieme generation dans les hopitaux de Sfax, Tunisie (1999-2005). *J. Med. Mal* **38**(6): 239-298.
- Molton JS, Tambyah PA, Ang BSP, Ling ML, Fisher DA. 2013.** The global spread of healthcare associated multidrug resistant bacteria: a perspective from Asia. *Clinical Infectious Diseases*, **56**(9): 1310–1318.
- Morosini M.I, García-Castillo M, Coque T.M, Valverde A, Novais A, Loza E. 2006.** Antibiotic coresistance in extended-spectrum-bêta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and *in vitro* activity of tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother* **50**(8): 2695–9.
- Murray PR, Baron E J, Jorgensen J H, Landry M L, Pfaller M A. 2007.** Manual of Clinical Microbiology. Washington, D.C : ASM Press, p. 2310.

- Najiby K-C.** 2012. Klebsielle Pneumoniae pathogène nosocomial, résistance et virulence. Thèse de doctorat : Microbiologie et Parasitologie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 190p.
- Nandou M.T.** 2005. Sensibilité et évolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques. Université de Bamako, Mali, 158p.
- Naseer U, Sundsfjord A.** 2011. The CTX-M Conundrum: Dissemination of Plasmids and *Escherichia coli* Clones. *Microbial Drug Resistance* **17**(1): 83–97.
- National committee for clinical and laboratory standards institute.** 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 15th informational supplement update. M100-S15). N.C.C.L.S.
- Ndiaye A.** 2005. Les entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargie. Université Cheikh Anta diop de Dakar, 65p.
- Ndir A.** 2015. Epidémiologie Et impact médico-économique des infections hospitalières causées par les Entérobactéries Productrices de β -lactamases a spectre étendu au Sénégal. Thèse de doctorat. Université Pierre Et Marie Curie, 79p.
- Nedjai S, Barguigua A, Djahmi N, Jamali L, Zerouali K, Dekhil M.** 2012. Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Médecine et Maladies Infectieuses* **42**(1): 20–9.
- Nordmann P, Dortet L, Poirel L.** 2012. Rapid detection of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*. **50**: 3016–3022.
- Nordmann P, Poirel L.** 2005. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in *Enterobacteriaceae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **56**(3): 463-9.
- Ozniewski A, Rabaud C.** 2010. Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins CCLIN Sud-Est. Nancy.
- Pasteran F.G, Otaegui L, Guerriero L, Radice G, Maggiora R, Rapoport M.** 2008. *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-2, Buenos Aires, Argentina. *Emergence of Infectious Diseases* **14**(7): 1178–80.
- Paterson D.L.** 2006. Resistance in Gram negative bacteria: *enterobacteriaceae*. *The American Journal of Medicine* **119**(6): 62–70.

- Paterson D.L, Bonomo R.A.** 2005. Extended-Spectrum beta-Lactamases: a Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews* **18**(4): 657–686.
- Perichon B, Courvalin P, Galimand M.** 2007. Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* **51**: 2464–9.
- Pitout J.D.D, Laupland K.B** .2008. Extended-spectrum bêta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infectious Diseases* **8**(3): 159–66.
- Prère M.F, Licznar P, Decramer S, Fayet O.** 2004. *Escherichia coli* des infections urinaires et pyélonéphrites aiguës en pédiatrie. *Pathologie Biologie*. **52**: 497-500.
- Ramdani-Bougoussa N, Manageiro V, Jones-Dias D, Ferreira E, Tazir M, Caniça M.** 2011. Role of SHV β -lactamase variants in resistance of clinical *Klebsiella pneumoniae* strains to β -lactams in an Algerian hospital. *Journal of Medical Microbiology* **60**(7): 983–987.
- Rice L.B, Carias L.L, Hujer A.M.** 2000. High-level expression of chromosomally encoded SHV-1 beta-lactamase and an outer membrane protein change confer resistance to ceftazidime and piperacillin-tazobactam in a clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **44**: 362-365.
- Robin F, Gibold L, Bonnet R.** 2012. Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? *Revue Francophone Des Laboratoires*, **445**: 47–58.
- Rodriguez-Villalobos H, Struelens M.-J.** 2006. Résistance bactérienne par β lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation* **15**: 205-213.
- Ruppé E.** 2010. Epidemiology of expanded-spectrum bêta-lactamases: The rise of CTX-M. *Antibiotiques* **12**: 3-16.
- Sangare SA, Maiga AI, Guindo I, Maiga A, Camara N, Dicko OA, Diallo S, Bougoudogo F, Armand-Lefevre L, Andremont A, Maiga II.** 2016. Prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* isolated from blood cultures in Mali. *The Journal of Infection in Developing Countries* **10**: 1059-1064.

- Sekhri-Arafa N.** 2011. Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse de doctorat. Constantine : Université Mentouri Constantine, 186p.
- Severin J.A, Mertaniasih N.M, Kuntaman K, Lestari E.S, Purwanta M, Lemmens-Den Toom N.** 2010. Molecular characterization of extended-spectrum bêta-lactamases in clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Surabaya, Indonesia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **65**(3): 465–9.
- Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi S.M.D, Kamal M.A.** 2015. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* **22**(1): 90–101.
- Shakil S, Khan R, Zarrilli R, Khan A.U.** 2008. Aminoglycosides versus bacteria--a description of the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground. *Journal of Biomedical Science* **15**: 5-14.
- Somily A.M, Habib H.A, Absar M.M, Arshad M.Z, Manneh K, Al Subaie S.S.** 2014. ESBLproducing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at a tertiary care hospital in Saudi Arabia. *The Journal of Infection in Developing Countries* **8**(9): 1129–36.
- Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G.** 2002. Occurrence of extendedspectrum bêta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* in Italy: implications for resistance to bêta-lactams and other antimicrobial drugs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **46**(1): 196–202.
- Vasseur M** .2014. Détermination de nouvelles modalités d'utilisation des bêta-lactamines en médecine vétérinaire par des approches PK/PD en vue de la protection de la santé publique : implication de la taille de la charge bactérienne pathogène. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, 220p.
- Vodovar D, Marcadé G, Raskine L, Malissin I, Mégarbane B.** 2013. Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *La Revue de Médecine Interne* **34**(11): 687–693.
- Wolff M, Joly-Guillou M.L, Pajot O.** 2009. Les carbapénèmes. *Réanimation* **18**(18): S199–208.

Wu J.J, Ko W.C, Tsai S.H, Yan J.J. 2007. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA, QnrB, and QnrS among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese hospital. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **51**(4): 1223–7.

Yanat B, Touati A, Benallaoua S. 2008. Etude de la résistance aux quinolones de souches d'entérobactéries d'origine communautaire isolées dans la région de Béjaïa. Laboratoire de Microbiologie Appliquée. Université A. MIRA de Béjaïa, Algérie, p1-6.

ANNEXES

Annexe 01 : Examens après coloration

Préparation de frottis mince

- Noter la référence de l'échantillon sur une lame propre.
- Prélever stérilement à l'aide d'une pipette Pasteur une goutte de l'échantillon, et l'étaler parfaitement sur la lame.
- Fixer le frottis en passant délicatement et rapidement la lame au dessous de la flamme de bec bunsen.

Coloration au bleu de méthylène (Coloration simple)

Sur le frottis fixé et refroidi :

- Faire couler la solution de bleu de méthylène jusqu'à ce que toute la lame soit recouverte.
- Laisser agir Cinq minutes.
- Rincer la lame avec une pissette d'eau distillée, jusqu'à élimination des colorants en excès.
- Sécher à l'air ou sur une platine chauffante, puis examiner au microscope a l'immersion au grossissement X 100.

Coloration de Gram (coloration différentielle)

Sur le frottis fixé et refroidi :

- Recouvrir la lame de violet de gentiane une minute.
- Rejeter le violet de gentiane.
- Recouvrir de lugol une minute.
- Rejeter le lugol.
- Décolorer à l'alcool, la lame étant tenue inclinée. La durée de décoloration a l'alcool est variable selon l'épaisseur du frottis. En pratique, la durée de décoloration est suffisante lorsque ce qui s'écoule en bas de la lame inclinée et devenue claire.
- Stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau.
- Recouvrir la lame de la fuchsine diluée trente secondes à une minute.
- Laver à l'eau, ensuite sécher entre deux feuilles de papier filtre puis à la chaleur.
- Examiner à immersion X100.

Annexe 02 : guide de lecture de la galerie RapiD™ One

RapID™ ONE Color Guide

Test Test Test Test Prueba	Cavity Cavité Kammer-Nr. Pozetto Pocillo	Positive Reactions Réactions positives Positive Reaktionen Reazioni positive Reacciones positivas	Negative Reactions Réactions négatives Negative Reaktionen Reazioni negative Reacciones negativas
URE	1		
ADH	2		
ODC	3		
LDC	4		
TET	5		
LIP	6		
KSF	7		
SBL	8		
GUR	9		
ONPG	10		
βGLU	11		
βXYL	12		
NAG	13		
MAL	14		
ADON	18		
PRO	15		
GGT	16		
PYR	17		
IND	18		

Note: RapID™ Color Guides are intended as an educational aid to be used in conjunction with the instructions for use for the product. The reaction colors shown in the charts represent the typical shades of positive and negative colors.

Remarque: les guides de coloration RapID™ sont conçus pour être utilisés comme supports de formation en association avec le Mode d'emploi du produit. Les couleurs de réaction indiquées dans les tableaux représentent les nuances typiques des colorations positives (+) et négatives (-).

Anmerkung: Die RapID™ Farbskalen sind als Lehrmittel bestimmt und zusammen mit der Gebrauchsanweisung für das Produkt zu verwenden. Die in den Tabellen enthaltenen Reaktionsfarben stellen die typischen Farbschattierungen für positive (+) und negative (-) Reaktionen dar.

Nota: le guide ai colori RapID™ sono un supporto formativo da utilizzare in abbinamento alle istruzioni per l'uso del prodotto. I colori della reazione presenti nelle tavole rappresentano le sfumature tipiche dei colori positivi (+) e negativi (-).

Nota: Las Guías de colores RapID™ han sido concebidas como una ayuda de formación para su utilización con las instrucciones de uso del producto. Los colores de reacción mostrados en los diagramas representan los tonos típicos de colores de positivo (+) y negativo (-).

Rev. Date 6/04/2010
Date de rév. 04/08/2010
Überprüft am: 04.06.2010
Data rev. 6/4/2010
Fecha de revisión 4-6-2010

12076 Santa Fe Drive
Lenexa, KS 66215
800-255-6730
www.remel.com

remel
Part of Thermo Fisher Scientific

Annexe 03 : fiche d'identification de la galerie RapiD™ One

remel

RapID™ ONE

Report Form

Reference #, No. de référence, Referenz-Nr. _____

Date, Date, Datum _____

Tech, Tech, Techn. _____

Source, Source, Quelle _____

Reagent / Réactif / Reagenz	None / Aucun / Keine,													RapID ONE Reagent / Réactif RapID ONE / RapID ONE Reagens	None / Aucun / Keine	RapID Spot Indole				
	Red or violet / Rouge ou violet / Rot oder Violett	Bright Purple or blue / Violacé brillant ou bleu / Leuchtendes Purpur oder Blau			Yellow / Jaune / Gelb									Red / Rouge / Rot	Violet, purple, red, or dark pink / Violet, violacé, rouge ou rose soutenu / Purpur, Violett, Rot oder Dunkelrosa	Yellow or very light orange / Jaune ou orange très clair / Gelb oder sehr helles Orange	Brown, black, or purple / Marron, noir ou violacé / Braun, Schwarz oder Purpur			
Cavity #, No. cavité / Kammer-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	18	
Test Code / Code du test / Testcode	URE	ADH	ODC	LDC	TET	LIP	KSF	SBL	GUR	ONPG	BGLU	BXYL	NAG	MAL	PRO	GGT	PYR	ADON	IND	OXI
Value / Valeur / Wert	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2
Result / Résultat / Ergebnis																				
Value Total / Total des valeurs / Gesamtwert																				

IDENTIFICATION / IDENTIFICATION /

IDENTIFIZIERUNG _____



Microcode _____

REMEL Inc

800-255-6730

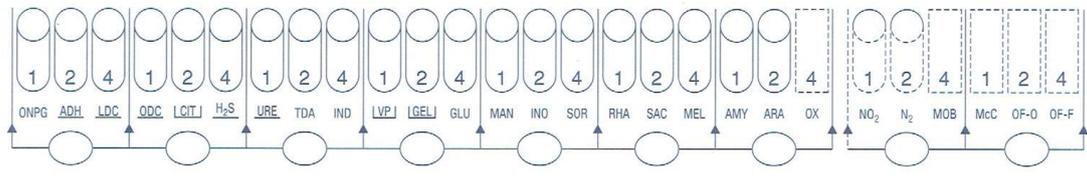
Printed in USA 04/12

Annexe 04 : fiche d'identification de la galerie API 20E


 07223 C

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :





Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :

Imprimé en France / Printed in France

Annexe 05 : tableau de lecture de la galerie API 20E

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Annexe 06 : fiche de l'antibiogrammes des entérobactéries utilisées à l'HUMRC

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية




MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE
5° REGION MILITAIRE
CHAHID ZIGHOUT YUCEF
HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE
BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE
LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE
 Poste : 50-551

Nom : _____ **Prénom :** _____ **Age : /.** _____
Nature du Prélèvement: _____ **Service :** _____ **N° :** _____
EXAMEN DIRECT : _____
DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE : _____

ANTIBIOGRAMME POUR ENTEROBACTERIES

PENICILLINES		AMINOSIDES	
Ampicilline		Amikacine	
Amoxicilline		Gentamicine	
Amoxicilline - ac. clavulanique		Tobramycine	
Ticarilline		QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES	
Pipéracilline		Acide nalidixique	
CEPHALOSPORINES		Norfloxacine	
Céfazoline		Ofloxacine	
Céfalotine/Céfalexine		Ciprofloxacine	
Cefoxitine		DIVERS	
Céfotaxime		Colistine	
Ceftriaxone		Triméthoprim- Sulfaméthoxazole	
Céfixime		Furanes	
Céfépime		Fosfomycine	
Cefpirome		Chloramphénicol	
CARBAPENEMES			
Imipénème			
Ertapénème			

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant

Constantine le : _____ **LE MEDECIN**

Annexe 07 : Breack points des antibiotiques selon le CLSI

Antibiotiques	Break-points
Amx/Amp	14-16
Amx+ac.clav	15-20
Ticarcilline	15-19
Tic+ac-clav	15-19
Pipéracilline	18-20
Pip/tazobactam	18-20
Imipénème	14-15
Céfazoline	15-17
Céfoxitine	15-17
Céfotaxime	15-22
Ceftazidime	15-17
Céfotétan	15-17
Aztréonam	16-21
Céfépime	15-17
Tobramycine	13-14
Amikacine	15-17
Gentamicine	13-14
Kanamicyne	14-17
Isépamycine	15-17
Triméthoprim- Sulfaméthaxazole	11-15
Ac-nalidixique	14-18
Pefloxacine	13-15
Ciprofloxacine	16-20

CARACTÉRISATION DES ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES DE BÊTA-LACTAMASES À SPECTRE ÉLARGI ISOLÉES À L'HÔPITAL MILITAIRE RÉGIONAL UNIVERSITAIRE DE CONSTANTINE (HMRUC)

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie

Les bactéries multirésistantes (BMR) représentent un problème de santé publique mondial, majoré par la pression de sélection bactérienne imposée par la prescription toujours croissante d'antibiotiques. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (E-BLSE) sont aujourd'hui les BMR majoritaires. Le but de ce travail était d'identifier et de caractériser les entérobactéries productrices de BLSE isolées chez les patients hospitalisés et externes au niveau de l'HMURC et d'établir leur profil de résistance aux antibiotiques. Il s'agit d'une étude prospective allant de mars à mai 2019 et d'une étude rétrospective d'un an (2018) basée sur l'interprétation des résultats des antibiogrammes et des dossiers médicaux des archives de l'unité microbiologie-parasitologie. L'identification des bactéries a été faite sur la base des caractères morphologiques, culturels et biochimiques, la sensibilité des souches a été étudiée par la méthode des disques préconisée par le CLSI. Un nombre de 751 souches d'entérobactéries sont isolées de divers prélèvements pathologiques chez 666 patients hospitalisés et externes. Dans cette étude, L'incidence de souches d'entérobactéries productrices de BLSE était de 35%, et parmi les espèces identifiées, on a trouvé majoritairement *Klebsiella pneumoniae* avec une fréquence 43% suivi par *Escherichia coli* à 40%. Les E-BLSE isolées dans notre étude sont majoritairement d'origine hospitalière avec un taux de 90%, et proviennent essentiellement de pus et des prélèvements urinaires avec une fréquence de 45%. Notre étude confirme l'importance croissante des résistances rencontrées chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases au niveau de HMRUC dont le niveau de résistance est absolu (100%) vis-à-vis des bêta-lactamines utilisées. L'imipénème et l'amikacine conservent une excellente activité vis-à-vis ces E-BLSE. Au terme de cette étude nous rappelons les recommandations d'hygiène individuelle et collective et l'utilisation rationnelle des antibiotiques pour éviter l'émergence de nouvelles résistances.

Mots clés : entérobactéries, résistance aux antibiotiques, sensibilité, bêta-lactamases à spectre élargi.**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de microbiologie à l'HMRUC

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : BOUZERAIB Latifa (Maître assistante A - UFM Constantine),
Rapporteur : SAKHRI-A Nedjouda (Maître de conférences A - UFM Constantine),
Examinatrice : MEZIANI Meriem (Maître assistante A - UFM Constantine).
Co-encadreur : MEZIANI Ahmed Amine (Maître assistant en microbiologie-HMRUC).

Date de soutenance : 10/07/2019