

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/20

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOMEMASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

BENAMROUCHE Manel et MOUDJAHED Oussama

Thème

**Les entérobactéries productrices de carbapénémases dans
le portage fécal chez les patients en réanimation au CHU
de Béjaia**

Soutenu le : 17/ 09 / 2020

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M^r REMINI H</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M^{me} BENBARA T</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>
<i>Dr AZOUAOU M</i>	<i>MCB.</i>	<i>Univ. de Béjaia</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Dr DJENADI K</i>	<i>MAB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Co-Promotrice</i>

Année Universitaire : 2019/2020

« *Notre vie vaut ce qu'elle nous a couté d'efforts* »
François mauriac

Remerciements

Avant tout nous remercions Dieu tout puissant pour nous avoir donné la force, le courage ainsi que la patience pour mener à terme ce travail.

Nous exprimons nos sincères remerciements :

*A notre promotrice **Dr M. AZOUAOU** responsable du laboratoire central de Microbiologie du CHU de Béjaia. Nous la remercions pour son aide, et pour nous avoir proposé ce thème d'actualité.*

*C'est avec une profonde reconnaissance et une considération particulière qu'on adresse notre gratitude à notre Co-promotrice **Dr K. DJENADI** pour sa prise en charge attentive, sa disponibilité, et sa patience, pour le temps que vous nous avez accordé, pour le savoir que vous nous avez partagé et pour l'assistance et l'aide dont on a bénéficié, vos efforts ont été pour nous une source constante de motivation à poursuivre et à achever ce travail.*

*Nos vifs remerciements vont à l'égard des membres du jury en l'occurrence **Dr H. REMINI** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury et **Dr T. BENBARA** qui a accepté d'apporter sa contribution en examinant notre travail.*

A l'ensemble des enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Université de Bouira.

Nous adressons, enfin et surtout, nos plus profondes gratitude et tout notre amour à nos familles qui ont su nous faire confiance et nous soutenir en toutes circonstances.

MERCI

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A la plus belle créature que dieu a créée sur terre

A La personne la plus précieuse dans mon cœur

A celle qui m'a donnée la force, le courage,

A mon exemple

A mon ombre, celle qui me soutient dans tout ce que j'entreprends

A cette source de tendresse, de patience, d'amour, de générosité

A la personne qui a donné sens à ma vie

A ma maman d'amour

A mon Papa, les phrases, les mots ne pourraient exprimer ma gratitude

A mon pilier, mon exemple, mon repère et mon guide

A la personne qui m'a toujours comprise, soutenue

A la personne qui était toujours là pour moi afin de me guider, et me suivre

A mon modèle, à mon papa adoré

Les deux personnes qui ont fait de moi la femme que je suis aujourd'hui, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

A mes petites sœurs les prunelles de mes yeux, « Anfel » et « Aya », merci pour la joie et la bonne humeur que vous m'apportez tous les jours.

A mon oncle « Benamrouche Djamel », qui m'est très cher, merci d'être toujours là pour moi.

A ma Tata « Demdoug Razika » tes conseils, ta présence, ton énergie m'ont fait beaucoup avancé, merci d'être toujours là a me soutenir.

A mon binôme, avec qui j'ai partagé ce modeste travail, merci pour les efforts que tu as fournis et pour ta compréhension, je te souhaite beaucoup de succès.

Manel

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

*Tous ceux qui se sont donné toutes les peines et les sacrifices,
pour me voir réussir dans la vie.*

*Les deux personnes les plus chères à mon cœur, mon père et ma mère
qui m'ont apporté soutien et confort tout au long de mes études.*

À mes très chers frères.

À toute la famille MOUDJAHED

À tous mes amis sans exception.

*Et sans oublier mes enseignants qui m'ont soutenu Durant toutes
Mes années d'études.*

OUSSAMA

SOMMAIRE

Sommaire	
Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Chapitre I : Généralités sur les Beta- lactamines	03
1. Définition des β lactames	03
2. Mécanismes d'action	04
3. Classification	05
3.1. Pénicillines	07
3.2. Carbapénèmes	07
3.3. Céphalosporine	09
3.4. Les monobactames	09
3.5. Inhibiteurs de bêta-lactamases	09
Chapitre II : Les entérobactéries et la résistance aux carbapénèmes	10
1. Généralité sur les entérobactéries	10
1.1. Histoire et Taxonomie	10
1.2. Habitat	10
1.3. Définition et caractérisation	10
1.4. Les principaux genres d'entérobactéries	12
1.4.1. <i>Escherichia coli</i>	12
1.4.2. <i>Klebsiella</i>	12
1.4.3. <i>Shigella</i>	13
1.4.4. <i>Proteus</i>	14
1.4.5. <i>Salmonella</i>	15
1.4.6. <i>Yersinia</i>	15
2. La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes	15
2.1. Mécanisme de résistance aux carbapénèmes	15
2.1.1. Entérobactéries résistantes aux carbapénème ne produisant pas des Carbapénèmases	15
2.1.2. Entérobactéries produisant des Carbapénèmases	17
2.1.2.1. Carbapénèmases de classe A	18
2.1.2.2. Carbapénèmases de classe B	19
2.1.2.3. Carbapénèmases de class D	20
2.2. La génétique de la résistance aux carbapénèmes	22
2.2.1. Mutation spontanée	22
2.2.2. Acquisition de gènes de résistance	22
2.2.2. Éléments génétiques mobiles	24
Chapitre III : Le transport et la diffusion de la résistance aux carbapénèmes	25
1. Microbiote intestinal et le résistome	26

SOMMAIRE

2. Ecologie bactérienne au service réanimation	26
3. Maitrise des infections nosocomiale en réanimation	27
4. Maitrise de l'antibiothérapie en réanimation	28
5. Mécanisme d'infection	30
Chapitre IV : Stratégie de recherche des EPC dans le portage fécal	
1. Echantillonnage	31
2. Isolement et purification	31
3. Identification	31
3.1. Identification classique (galerie API20)	31
3.2. Identification moléculaire	33
4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	34
5. Méthodes de détection des carbapénèmases	34
5.1. Test phénotypique	35
5.1.1. Test de Hodge modifié	35
5.1.2. Le Carba NP test modifié	36
5.1.3. Méthode d'inactivation du carbapénème (CIM)	37
5.1.4. Détection des metallo- β -lactamases (MBL)	38
5.1.4.1. Le test de synergie double disque	38
5.1.4.2. Méthode de diffusion sur disque combinée (test sur disque combiné)	39
6. Les méthodes génotypiques (biologie moléculaire)	39
Chapitre V : Epidémiologie et l'émergence des EPC dans le milieu clinique	41
Conclusion	48
Références bibliographiques	
Annexes	

LISTE DES TABLEAUX

Liste des Tableaux	
Tableau 01 : Interprétation des résultats du Carba NP test modifié	36

LISTE DES FIGURES

Liste des Figures	
Figure 01 : Mécanisme de Résistance chez les bacilles à Gram négatif	17
Figure 02 : Carbapénèmases décrites dans des souches cliniques des bacilles à Gram négatif de l'Algérie	22
Figure 03 : Représentation schématique du résistome intestinal	26
Figure 04 : Représentation schématique de la galerie API20E	33
Figure 05 : Test de Hodge modifié	36
Figure 06 : Test de synergie double disque	38
Figure07 : Méthode des disques combinés	49
Figure08 : Zones d'endémie pour les entérobactéries productrices de carbapénèmases en fonction du type d'enzyme	42

Liste des Abréviations

ACE	Antigen Commun Enterobacteria
AmpC	Chromosomal located céphalosporinase
BGN	Bacilles à Gram Négatif
BHRe	Bactéries Hautement Résistantes émergentes
bla	beta-lactamase-encoding gene
BLSE	β -lactames à spectre étendu
BMR	Bactéries Multi Résistantes
C3G	Céphalosporines de troisième génération
C4G	Céphalosporines de quatrième génération
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CTX-M	Cefotaximase, first isolated at Munich
EPC	Entérobactérie Productrice de Carbapénèmase
ERC	Entérobactéries résistantes au carbapénème
FDA	Food and Drug Administration
GES	Guiana extended spectrum β -lactamase
HCSP	Haut Conseil de la santé publique
IPM	Imipénème.
KCN	Cyanure de potassium
KPC	Klebsiella pneumoniae carbapénèmases OXA: Oxacillinase
LDC	Lysine Décarboxylase
MALDI-ToF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation time-of-flight
MβL	Métallo- β -Lactamase
NDM	New Delhi métallo- β -lactamase
ONPG	Orthonitrophényl- β -galactoside
PLP	Protéines Liant les Pénicillines.
RND	Resisence Nodulation division EDTA: EthylèneDiamineTétra-Acétique
SHV	Sulfhydryl variable
TEM	Temoneira
THG	Transfert horizontal de gènes
VIM	Verona integron-encoded métallo- β -lactamase
VP	Voges- Proskauer

Introduction

Introduction

La découverte des antibiotiques a fait naître l'espoir qu'il serait un jour possible de maîtriser l'ensemble des maladies infectieuses, toute fois l'apparition de la résistance aux antibiotiques a mis fin à ces espérances. L'utilisation massive et parfois abusive des antibiotiques, a modifié considérablement l'écologie microbienne et tend à augmenter le taux de bactéries résistantes (**Mangin, 2016**)

L'évolution rapide de la résistance bactérienne aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique. Cette résistance s'est manifestée par trois mécanismes principaux : (a) dégradation enzymatique ou modification des composés antibiotiques ; (b) les pompes d'efflux qui élimine activement les composés antibiotiques ; et (c) la modification ou la protection du site d'action des antibiotiques (**Cytryn, 2013**).

Les carbapénèmases, l'enzyme la plus inquiétante pour la santé publique. Elle confère dans la grande majorité des cas à la bactérie une résistance à toutes les β -lactamines, et particulièrement aux carbapénèmes, qui sont parmi les rares médicaments de dernière ligne, disponibles pour la thérapie contre les infections graves, telles que les bactériémies, causées par les souches multirésistantes, notamment celles exprimant des β -lactamases à spectre étendu (BLSE)(**Vaux et al., 2011**).

De plus, cette enzyme est stable, elle est souvent associé à d'autres mécanismes de résistances pour d'autres familles d'antibiotiques (aminosides, quinolones...), en raison de la localisation plasmidique des gènes de résistance. Ce mécanisme est alarmant car la résistance est portée par des éléments génétiques mobiles donc transmissibles entre souches(**Holman, 2015**). Elles sont à l'origine d'impasses thérapeutiques en raison de la résistance à la quasi-totalité des β -lactamines et des résistances associées aux autres familles d'antibiotiques co-transmises par les plasmides. De plus, elles sont associées à un risque épidémique très important du fait du transfert horizontal de leurs gènes (**Ohno et al., 2020**).

En effet durant ces dix dernières années, nous avons constaté une importante augmentation, particulièrement chez les bactéries à Gram négatif. Les entérobactéries sont parmi les souches les plus fréquemment isolés et constituent une des familles bactériennes les plus importantes en pathologie humaine. En effet elles font partie de la flore digestive, mais elles sont souvent responsables d'infections nosocomiales. Ces dernières sont à l'origine de mortalité et de morbidité élevées partout dans le monde (**Tani, 2014**).

Les entérobactéries bactéries à Gram négatives, constituent la principale source d'infections communautaires et hospitalière. Elles sont de plus en plus résistantes aux antibiotiques et en particulier aux carbapénèmes. La résistance aux carbapénèmes chez les

Introduction

entérobactéries résulte dans la production des enzymes qui hydrolyse ces antibiotiques tels que les carbapénèmases (**Baran & Aksu, 2016**). L'isolement des Entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) dans une population immunodéprimée comme les patients en réanimation est d'autant plus inquiétante, compte tenu de la particularité de cette unité est d'être un réservoir de bactéries multi-résistives. Le séjour en milieu de réanimation, l'exposition aux antibiotiques, au cathétérisme central et à la ventilation mécanique sont autant de facteurs de risque d'infection à EPC (**Merzougui et al., 2018**). La dissémination de ces EPC dans l'environnement hospitalier mène l'antibiothérapie à l'échec et crée par la suite un grave problème de santé public (**Lepelletier et al., 2015**).

L'ensemble de ces investigations qui met la lumière sur le danger que présente ces EPC pour la santé publique nous a motivé à nous lancer dans la recherche des entérobactéries productrices de carbapénèmases dans le portage fécal chez les patients de réanimation au CHU de Béjaia.

A défaut de la situation sanitaire de COVID 19 qui a touché le monde et notre pays, nous n'avons pas pu poursuivre la démarche expérimentale telle qu'elle a été programmée au début de l'année universitaire. De ce fait, nous nous sommes limités à une synthèse bibliographique et une pré-étude dans laquelle on a fait des premiers criblages de ces EPC pour vérifier l'hypothèse qui annonce que l'environnement hospitalier est menacé par une émergence de EPC dans les différents services et cette dissémination est en relation directe avec le transfert horizontal des gènes de résistances.

Ce présent manuscrit est divisé en cinq chapitres :

- Le premier chapitre : nous avons réalisé une synthèse bibliographique sur les Beta-lactames
- Le deuxième chapitre est consacré pour les entérobactéries et la résistance aux carbapénèmes
- Le troisième chapitre nous avons élaboré une synthèse sur le transport et la diffusion de la résistance aux carbapénèmes.
- La quatrième chapitre est destiné à la méthodologie de travail suivie pour réaliser une recherche des EPC dans le portage fécal
- Le cinquième chapitre : présente une synthèse sur l'épidémiologie et l'émergence des EPC dans le milieu clinique.

Chapitre I : Généralités sur les Beta-lactamines

Les antibiotiques des molécules actives qui ont révolutionnés le monde. Depuis leurs mises en évidence en 1920, le monde ne peut parler de la molécule d'antibiotique sans évoquer le nom de Sir Alexander Fleming ; mais pour l'étymologie du mot on fait référence à Paul Vuillemin le premier qui évoqua le mot antibiotique 1889 (**Klein, 2012**). Un antibiotique est une substance chimique capable d'inhiber la croissance bactérienne (bactériostatique) ou même de tuer des bactéries (bactéricide), sans exercer habituellement d'effet toxique pour les organismes supérieurs (cellules eucaryotes). Les antibiotiques au sens strict, sont des produits de manière naturelle élaborés par des microorganismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivées semi synthétiques et les produits entièrement synthétiques (**Nauciel & Vildé, 2005; Lavigne, 2007**). Par extension, toute substance naturelle, synthétique ou semi-synthétique susceptible d'empêcher le développement des microorganismes est appelée antibiotique (**Mazri, 2015**). Les différents antibiotiques exploités en médecine thérapeutique peuvent être classés par famille chimique et par leurs mécanismes d'action, lesquels conditionnent leur spectre d'activité. Les cibles décrites jusqu'à présent sont la paroi bactérienne, la membrane cytoplasmique, l'acide nucléique et les ribosomes des microorganismes (**Hajar, 2017**). Nombreuses les classes d'antibiotiques qui ont pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi. Dans cette catégorie, nous trouvons les β -lactames, qui agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP)(**Nauciel & Vildé, 2005**).

1. Définition des β - lactame

La première molécule d'antibiotique était identifiée dès la fin du XIXe siècle par Ernest Duchesne, fut la pénicilline. Les propriétés de cette dernière sont redécouvertes en 1928 par Sir Alexander Fleming. Il visualisa que certaines de ses cultures bactériennes dans des boîtes oubliées été contaminées par les expériences de son voisin de paillasse étudiant qui manipulait avec un champignon : le *Penicillium notatum*. Par la suite l'équipe scientifique travailla pendant plusieurs années pour purifier cet antibiotique. Ce n'est qu'en 1940 que Florey et Chain purifièrent la pénicilline. Elle ne fut toutefois exploitée en thérapeutique que vers 1940 ; une époque où les scientifiques ne servait jusque-là que nettoyer les boîtes de Pétri de leurs bactéries.

Dix ans plus tard, la benzylpénicilline (pénicilline G) était disponible pour l'utilisation clinique (**Galmiche, 1999**). Les β -lactames sont des bactéricides qui présentent un mode d'action commun, elles agissent sur la synthèse du peptidoglycane. Elles se caractérisent par le spectre, l'efficacité et la pharmacocinétique ou la tolérance. Par le nombre, la diversité des

molécules et leurs indications thérapeutiques les β -lactames constituent la famille d'antibiotique la plus importante depuis plus de 60 ans (**Buxeraud & Faure, 2016**).

2. Mécanismes d'action

Les β -lactames sont des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne, que ce soit des Gram positif ou négatif. Ce mécanisme est fondé sur la liaison de l'antibiotique aux enzymes participant à la synthèse de la paroi bactérienne ; les protéines liant la Pénicilline (PLP). Les β -lactames ne doivent pas pénétrer dans la bactérie, mais bien rejoindre leur cible au niveau de la face interne de la paroi (espace périplasmique). Cet accès est direct pour les bactéries à Gram positif puisqu'il n'existe pas de membrane externe. Par contre, Chez les bactéries à Gram négatif, les β -lactames doivent traverser la membrane externe pour atteindre les PLP cibles. Cette membrane agit comme une barrière hydrophobe mais les β -lactames qui sont le plus souvent des molécules hydrophiles, ce qui favorisera le passage de ces molécules dans la cellule par la voie des porines (**Vallée, 2015**). Les β -lactames bloquent la synthèse du peptidoglycane ; un polymère majeur de la paroi des bactéries. Les β -lactames possèdent tous au moins un cycle β -lactame qui est à l'origine de l'activité antimicrobienne (**Buxeraud & Faure, 2016**).

Les PLP intervenant dans la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane. Le nombre des PLP varie selon les espèces, pour les entérobactéries ils sont désignées d'un nombre de sept en fonction de leur taille décroissante : 1a, 1b, 2, 3, 4, 5, 6, 7. Les PLP reconnaissent le cycle β -lactame du fait de son analogie structurale avec leur substrat naturel dipeptidique D-ala D-ala qui termine les chaînes polypeptidiques des précurseurs du peptidoglycane. Ainsi, après que l'antibiotique s'est fixé à la PLP, la réaction de transpeptidation est inhibée, la synthèse du peptidoglycane est bloquée et la cellule meurt rapidement (**Lie, 2002**).

Nous notons que chaque espèce bactérienne possède son propre ensemble spécifique de PLP. Trois effets morphologiques différents peuvent être observés selon les fixations préférentielles d'une β -lactame sur la PLP, L'inactivation simultanée des PLP1a et 1b, impliquées dans la lyse cellulaire. L'inactivation de la PLP2 est responsable dans la réalisation de la forme bactérienne aboutit à la formation de cellules ovoïdes osmotiquement stables, alors que celle de la PLP3 impliquée dans la division cellulaire, et son inhibition entraîne la formation de bactéries filamenteuses, qui vont se lyser lentement. L'inactivation des PLP4, 5 ou 6, qui ne sont pas des PLP essentielles, n'entraîne pas de conséquences évidentes pour la bactérie. L'ensemble des perturbations de la formation de la paroi bactérienne explique l'arrêt de croissance de ces bactéries (**Bush & Bradford, 2016**).

3. Classification

Les β -lactames sont classées dans quatre groupes : pénicillines, carbapénèmes, céphalosporines et monobactames. Chacune de ces molécules ont leurs particularités structurales qui vont leur conférer des propriétés antibactériennes propres. A ces quatre sous-familles, il faut ajouter enfin les inhibiteurs des β -lactamases qui n'ont pas d'activité antibactérienne intrinsèque mais permettent de prévenir la dégradation de la β -lactame co-administrée (Livermore, 2012).

3.1. Pénicillines

Les pénicillines également appelées les pénames, regroupent toutes les β -lactames possédant une structure de base acide 6-aminopénicillamique (6-APA). Parmi les premières pénicillines apparues sur le marché est la pénicilline G sous forme intraveineuse et la pénicilline V l'équivalent de la pénicilline G sous forme orale. Elles possèdent une bonne activité contre les bactéries Gram positives, mais sont peu ou pas efficaces contre les bactéries Gram-négatives. En réaction à l'évolution de résistances contre ces pénicillines naturelles chez les bactéries, les industries pharmaceutiques ont recherché et développé d'autres molécules actives, ce qui a conduit à l'apparition des pénicillines de seconde génération. Ce sont des pénicillines semi-synthétiques, telles que l'oxacilline ou la méthicilline.

Elles sont également définies comme des pénicillines anti-staphylococciques, en raison de leur capacité à résister aux pénicillinases des staphylocoques. Ces pénicillines ont été conseillées pour traiter les infections cutanées, les infections par cathéter et la bactériémie (Lobanovska & Pilla, 2017). Dans les années 1960, les pénicillines de troisième génération à large spectre, comme l'ampicilline et l'amoxicilline ont été introduites, se sont révélées plus efficaces contre un groupe plus large de bactéries à Gram négatif ; y compris *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* Et *Shigella spp.* grâce à leur stabilité aux pénicillinases. Mais elles étaient inefficaces sur *Pseudomonas aeruginosa* (Page, 2012). La dernière génération de pénicillines, qui comprend les uréido-pénicillines et les carboxy-pénicillines, possèdent un spectre élargi à certains bacilles à Gram-négatif et elle a montré une activité puissante contre *Pseudomonas aeruginosa* (Lobanovska & Pilla, 2017).

L'utilisation excessive de β -lactame a entraîné l'émergence de bactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (BLSE). La recherche d'alternative ces antibiotique est un enjeu écologique actuel majeur. De nouvelles pénicillines parentérales telles que la témocilline est indiquée dans le traitement, chez l'adulte, l'enfant souffrant des infections des voies urinaires compliquées. Elle constitue une de ces alternatives et a sa place dans l'arsenal

thérapeutique en seconde ligne dans le traitement des infections à *Enterobacteriaceae* de groupe 1 et de groupe 2 ayant une BLSE. La première ligne étant constituée par la céfoxitine. En cas d'infection à *Enterobacteriaceae* de groupe 3 et 4, la témocilline est alors placée en 1ère ligne (Omnès, 2018).

3.2. Les carbapénèmes

Les Carbapénèmes sont des antibiotiques appartenant à la famille des β -lactames c'est la classe la plus puissante, leur succès revient à leur large spectre antibactérien, en plus de leur stabilité envers la totalité des β -lactamases et leur forte affinité pour les protéines liant la pénicilline (PLP) des bactéries à Gram négatif. Ils sont souvent utilisés comme antibiotiques de dernier recours pour le traitement des infections dues aux bacilles Gram négatifs multi-résistants.

La première molécule a été découverte en 1976. La thiénamycine produite par *Streptomyces cattleya* ; un micro-organisme du sol. Cette molécule étant instable a conduit à l'évolution d'un dérivé N-formimidoyl semi-synthétique, c'est l'imipénème. Cette molécule est le plus ancien carbapénème découvert en 1980 dérivé de la thiénamycine. Il est très vite dégradé in vivo par l'enzyme rénale déhydropeptidase (DHP 1) c'est pour cette raison qu'il est nécessairement d'associer à la cilastatine qui est un inhibiteur de DHP 1. Ce dernier ne possède pas d'activité antibactérienne mais a pour effet de prolonger la demi-vie de l'imipénème afin d'assurer son efficacité. D'autres molécules de carbapénème plus stables que l'imipénème ont été développées, notamment le méropénème, l'ertapénem et le doripénème. Dix ans plus tard fut l'apparition du méropénème fortement utilisé en Europe et en Amérique du sud, grâce à sa stabilité, il peut être utilisé seul, puis l'ertapénem en 2001. Cette molécule a un spectre d'activité plus réduit et son activité microbiologique est visiblement moins bonne, néanmoins il possède une durée de vie plus longue qui permet une seule administration fréquente. Le doripénème en 2007 possédant des propriétés et un spectre d'activité analogue à celui de l'imipénème et du méropénème (Kattan, Villegas, & Quinn, 2008; Wolff, Joly-Guillou, & Pajot, 2009).

Le méropénème fut le deuxième carbapénème à obtenir l'autorisation d'utilisation par la FDA (Food and Drug Administration) en 1996. De par sa stabilité vis-à-vis de DHP 1, le méropénème peut être utilisé seul. Nous pourrions souligner que l'imipénème possède une plus grande activité microbiologique que le méropénème vis-à-vis des bactéries Gram positif.

À l'inverse, le méropénème est plus actif in vitro que l'imipénème vis-à-vis d'un grand nombre de bactéries Gram négatif dont *Pseudomonas aeruginosa* (Durrmeyer &

Cohen, 2010). Au début des années 2000 il y a eu l'apparition de nouvelles carbapénèmes telles que L'ertapénem et le doripénème.

L'ertapénem possède une demi-vie plus longue que les deux molécules précédentes permettant une seule administration quotidienne, son activité microbiologique est nettement moins bonne et n'inclue pas dans son spectre les souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Le spectre de la doripénème est similaire à ceux de l'imipénème et du méropénème avec une grande activité contre *P. aeruginosa*. Nous citons enfin d'autres molécules de carbapénèmes qui sont largement disponibles sur le marché asiatique, notamment : panipénème, biapénème et tébipénème. Cette dernière molécule est le seul carbapénème oral(**Djenadi, 2019**).

A l'instar des autres β -lactames, les carbapénèmes agissent par inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries par fixation aux protéines de liaison aux pénicillines (PLP). Contrairement aux céphalosporines et aux aminopénicillines qui se lient principalement à la PLP3, les carbapénèmes ont pour cibles privilégiées les PLP1a, 1b. Pour inhiber la croissance des organismes Gram négatifs, il se lie à PLP2 avec pour conséquence une lyse sans filamentation préalable et une moindre libération d'endotoxine par les bacilles à Gram négatif(**Wolff et al., 2009**).

Les carbapénèmes présentent plusieurs avantages comme leur excellente pénétration à travers la paroi externe des bacilles à Gram négatif, une forte affinité pour les protéines liant la pénicilline (PLP). Mais leur grand intérêt thérapeutique provient surtout de leur stabilité vis-à-vis de la plupart des β -lactamases naturelles ou acquises, y compris les céphalosporinases, qu'elles soient chromosomiques ou plasmidiques, et des BLSE. Ces propriétés expliquent que ces molécules ont rapidement joué un rôle de premier plan dans le traitement initial, généralement probabiliste, des infections nosocomiales sévères en réanimation(**Gauzit, Gutmann, Brun-Buisson, Jarlier, & Fantin, 2010; Lecour, 2017**).

3.3.Céphalosporine

Les céphalosporines sont des molécules qui ont une structure similaires aux pénicillines. Elles ont la particularité de posséder un noyau β -lactame associé à un noyau dihydrothiazine pour former l'acide 7-aminocéphalosporanique (noyau céphème). Leur noyau céphème est beaucoup plus stable que le noyau pénam des pénicillines. Ce qui permet aux céphalosporines d'avoir une résistance à l'action des β -lactamases bactériennes. Les céphalosporines sont traditionnellement divisées en quatre générations, chaque génération correspondant à un certain pouvoir intrinsèque et spectre antibactérien, ainsi qu'à une capacité de résistance à l'hydrolyse des β -lactamases (**Fatoumata, 2004**).

Les céphalosporines de première génération sont essentiellement efficaces contre les bactéries pathogènes Gram positif comme les streptocoques et les staphylocoques sensibles à la méthicilline et à quelques entérobactéries qui ne produisent pas de β -lactamase ou ne produisent que des pénicillinases comme *E.coli*, *salmonelles*, *Klebsiella spp*, *P. mirabilis* et *Shigella*. Ce sont les moins stables face à l'hydrolyse par les β -lactamases. Les céphalosporines de deuxième génération comprennent céfamandole et céfuroxime, possèdent un spectre d'action plus étendu au sein des entérobactéries. Elles sont caractérisées par une meilleure résistance aux β -lactamases d'origine plasmidique (non BLSE). Mais elles sont hydrolysées par les céphalosporinases d'origine chromosomique AmpC. Les céphalosporines de troisième génération (C3G) sont principalement les céfotaxime et céftriaxone. Elles se distinguent par un accroissement important de leur spectre antibactérien et par leur stabilité à la plupart des β -lactamases comme les pénicillinases de type TEM et les céphalosporinases chromosomiques des entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (Godchaux, 2016).

La découverte des β -Lactamases à Spectre Elargi (BLSE) en 1983 marquera le début d'une nouvelle ère dans l'histoire de la résistance aux β -lactames. Ces enzymes sont capables d'hydrolyser les céphalosporines de troisième génération et les monobactames (Bibbal, 2008). Les céphalosporines de quatrième génération (C4G) (céfépime, cefpirome) sont à large spectre et présentent un gain d'activité sur les pathogènes à Gram négatif avec une meilleure résistance à l'hydrolyse par les céphalosporinase hyperproduites. Malheureusement, il reste sensible aux métallo- β -lactamases de classe B, ainsi qu'à de nombreuses β -lactamases à spectre étendu de classe A et de classe D. Actuellement en cours de développement (phase clinique). D'autres molécules ont été découvertes plus récemment, qualifiées de céphalosporines de « 5e génération », ces molécules sont actuellement représentées par la ceftaroline et le ceftobiprole. Ces molécules se caractérisent par leur structure qui leur confère une affinité conservée pour certaines PLP « modifiées » telles que la PLP2a du SARM et la PLP2x de certains pneumocoques résistants aux pénicillines (PRP). Malheureusement, Malgré un spectre intéressant couvrant les bacilles Gram négatif dont *Pseudomonas aeruginosa* et les entérobactéries, le ceftopibrole reste soit inactif soit peu actif sur les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (Charles, Dargent, & Andreu, 2017).

3.4. Les monobactames

Les monobactames sont actifs sur les bacilles Gram négatifs y compris celles exprimant les métallo- β -lactamases de classe B d'Ambler (M β L). Ils sont inactifs contre les

bactéries Gram positives et anaérobies. Leur structure monocyclique les différencie des pénicillines et des céphalosporines ; présentant une structure bicyclique, Cette classe est représentée par l'aztréonam. Cette dernière est un antibiotique β -lactame monocyclique isolé à l'origine de *Chromobacterium violaceum*. Il est résistant à de nombreuses β -lactamases. Il est utilisé dans le traitement des infections à Gram négatif, en particulier des méninges, de la vessie et des reins(Ramsey & MacGowan, 2016; El-Shorbagi & Chaudhary, 2019) .

3.5. Inhibiteurs de β -lactamases

Les inhibiteurs de β -lactamase sont des dérivés de l'acide clavulanique et de l'acide pénicillanique. Ce sont des inhibiteurs suicides de β -lactamase qui possèdent une faible activité antibactérienne intrinsèque. Ces inhibiteurs β -lactamases doivent être associés à d'autres β -lactames ayant une bonne activité antibactérienne. Lui permettent de conserver son activité vis à vis des souches productrices de β -lactamases. Les associations bien connues sont: amoxicilline-acide clavulanique et ticarcilline-acide clavulanique(Boisson & Mimoz, 2018)

Chapitre II : Les entérobactéries et la résistance aux carbapénèmes

1. Généralité sur les entérobactéries

1.1. Histoire et taxonomie

En 1937, les *Enterobacteriaceae* ont vu le jour. OtooRahn proposa le genre *Enterobacter* pour rassembler tous les microorganismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques commune. Parmi lesquels on trouve déjà des noms tels qu'Escherichia, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* et *Shigella*. De nos jours, la classification des entérobactéries s'est basée sur les séquences de l'ADN 16S. A partir de ces séquences les entérobactéries sont affiliées au domaine des *Eubacteria*, phylum des *Proteobacteria*, la classe des *Gammaproteobacteria*, à l'ordre des *Enterobacteriales* et à la famille des *Enterobacteriaceae* (Joly & Reynaud, 2004). Les entérobactéries qui intéressent la bactériologie médicale peuvent être classées en cinq tribus d'après leurs propriétés fermentatives : *Eschirechia*, *Klebsiellae*, *Proteae*, *Yersineae* et *Erwiniae* (Larpen, 2000).

1.2. Habitat

Le nom « Entérobactéries » fait référence à la localisation de cette famille de bactéries au niveau du tube digestif de l'homme et des animaux où ils sont retrouvés soit à l'état pathogène, soit à l'état de commensaux. Mais ce caractère écologique n'est pas exclusif. On les rencontre dans l'environnement (sols et eaux) (Fauchère & Avril, 2002). Certaines sont responsables d'infections humaines parfois sévères (fièvre typhoïde) n'est retrouvée que dans l'intestin de l'homme malade (Joly & Reynaud, 2004).

1.3. Définition et caractérisation

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif de dimensions varient de 2 à 3 µm de long et 0,3 à 1 µm de large. Elles sont très isolées dans l'environnement clinique. Elles se distinguent par de nombreuses espèces qui se caractérisent par une prévalence importante dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication et leur fréquente résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier (Nauciel & Vildé, 2005). Elles sont sporulés et peuvent être capsulés (*Klebsiella*), le plus souvent mobiles grâce à une ciliature péritriche. Certains genres comme *Klebsiella* et *Shigella* sont immobiles, La plupart des espèces pathogènes pour l'Homme possèdent des facteurs d'adhésion soit fimbriae ou pili communs. Les entérobactéries se développent rapidement in vitro sur des milieux ordinaires, en aéro-anaérobiose (18-24H), sauf les genres *Yersinia* et *Shigella* qui nécessitent au moins 48 heures de culture. La température optimale de croissance est de 35 à 37 °C. La culture des

entérobactéries est rapide. Pour la plupart des espèces les colonies formées après 18-24 heures d'incubation à 35-37 °C sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène (type « smooth » ou S). Après cultures successives, on peut avoir des colonies à surface sèche rugueuse (type « rough » ou R). Les *Klebsiella* donnent des colonies souvent très muqueuses, larges et luisantes. Les *Proteus* sont des espèces envahissantes. En milieu liquide, les entérobactéries occasionnent un trouble uniforme du bouillon (Khayar, 2011).

Les entérobactéries se définissent par leur pouvoir fermentaire du glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites ; sauf certaines souches d'*Erwinia* et *Yersinia*. Elles ne produisent pas d'oxydase et possèdent une catalase ; sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1. Ces caractères permettent de différencier les entérobactéries des autres bacilles à Gram négatif qui pouvant être cultivés sur des milieux ordinaires. La plupart des espèces d'entérobactérie possèdent un antigène commune appelé antigène de kunin ou ACE (Antigen Commun *Enterobacteria*). L'identification de cet antigène chez les *Yersinia* a permis d'inclure ce genre dans la famille des entérobactéries (Joly & Reynaud, 2004). Les entérobactéries se définissent par des antigènes de paroi « somatiques » ou antigènes O. Il est composé de lipopolysaccharides (LPS) complexes, très toxiques (endotoxine bactérienne), qui est thermostable et résiste à l'alcool et à l'acide. L'identification de ces antigènes se fait par la technique d'agglutination sur lame avec des sérums spécifiques. D'autres entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle (« flagellaires ») ou antigènes H. Enfin, certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K de nature polysaccharidique. Ils masquent l'agglutination par les anticorps anti O qui peut être restituée après chauffage de la souche car ils sont détruits par ébullition de deux heures. Ce sont des antigènes de surface (Denis *et al.*, 2016).

1.4. Les principaux genres d'*Enterobacteriaceae*

1.4.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli ou colibacille a été isolé pour la première fois par Théodore Von Escherich en 1885 dans les selles d'un nourrisson (Ahoyo *et al.*, 2007). Affiliée au genre *Escherichia*, *E. coli* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, ordre des *Enterobacterales*, phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*. Elle est retrouvée en abondance dans la flore commensale humaine, en particulier dans le tube digestif de l'homme qu'elle colonise dès les premières heures de la naissance. Sa présence dans l'eau est un indice de contamination fécale. *E. coli* est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. Elle est une bactérie mobile grâce à une ciliature péritriche. *E.*

coli n'est pas exigeante, elle se développe sur gélose ordinaire. Elle donne des colonies lisses, brillantes et homogènes. Elle peut apparaître sous forme coccobacillaire ou filamenteuse dans les vieilles cultures, Sa température de croissance optimale est de 37 °C. Elles Poussent aussi sur des milieux sélectifs pour les entérobactéries comme Mac conkey(Avril *et al.*, 2000).

Les principaux caractéristiques biochimiques d'*E.coli* est la fermentation du glucose, du lactose, du mannitol et du sorbitol ; production d'indole à partir de tryptophane, l'absence de production d'acétoïne après avoir fermenter le glucose donc réaction (VP) négative, possède une catalase mais est dépourvu d'oxydase (Balière, 2016). Les souches *Escherichia coli* occupent le tractus gastro-intestinal de nombreux animaux à sang chaud, dont l'homme, où elles jouent communément le rôle de bactérie commensale. Cependant, ces souches peuvent acquérir une virulence, induisant ainsi diverses infections telles des infections intestinales ou extra-intestinales (méningées néo-natal et des péritonites, de Cholécystites)(Mainil, 2003).

1.4.2. *Klebsiella*

Au sein des entérobactéries, les bactéries du genre *Klebsiella* se distinguent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles généralement encapsulés. On distingue cependant plusieurs espèces mais *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquemment retrouvée en clinique humaine (Kumar *et al.*, 2011). *Klebsiella pneumoniae* est une bactérie commensale de l'intestin, des voies respiratoires humaines et animales. Elle est un pathogène à fort potentiel épidémique fréquemment impliqué dans des infections sévères. De nombreuses épidémies nosocomiales causées par cette bactérie ont été décrites, notamment chez des patients hospitalisés dans des unités de soins intensifs adultes ou pédiatriques. Toutefois, il est également présent en dehors des hôpitaux, notamment chez des patients diabétiques, fortement débilisés, ou souffrant de maladies respiratoires chroniques(Martínez *et al.*, 2004, Carrer & Nordmann, 2011).

L'espèce *Klebsiella pneumoniae* est subdivisée en trois sous espèces *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* et *K. pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*(Drancourt *et al.*, 2001). L'espèce *K. pneumoniae* peut être isolée de l'eau, de végétaux, sol et d'aliments divers. Elle est rencontrée dans la flore fécale de 30 à 40% des animaux et de l'homme. Elle est fréquente dans les selles et peut être un indicateur d'une contamination fécale (Sekhri-Arafa, 2011). En général les espèces de *Klebsiella pneumoniae* sont simple à cultiver sur milieux classiques d'isolement pour entérobactéries à savoir : Drigalski, Hektoen et Mac Conkey. Les colonies de *Klebsiella pneumoniae* sont lactose positives, bombées, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine, d'un diamètre de 3 à 4

mm. En bouillon, on note la formation d'un trouble dense avec collerette visqueuse. À la différence des autres espèces de *Klebsiella*, plus de 90% des souches de *K. pneumoniae* croissent à 44 °C en bouillon lactosé bilié vert brillant et plus de 80% en fermentant le lactose avec production de gaz (Belbel, 2013). *K. pneumoniae* présente les caractères généraux des entérobactéries : c'est une bactérie aéroanaérobie facultative, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive et qui ont un métabolisme fermentaire particulier, c'est-à-dire qui produisent de l'acétoïne, une oxydase négative, nitrate réductase positive, uréase positive (Sougakoff & Trystram, 2003). *Klebsiella Pneumoniae* est affiliée au groupe des entérobactéries pathogènes opportunistes très incriminé dans les infections nosocomiales. Elle est responsable d'infections diverses: infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires, hépatiques intra-abdominales, bactériémies, septicémies, Infections de sites opératoires (Sekhri-Arafa, 2011).

1.4.3. *Shigella*

Nommé *Shigella* en l'honneur du bactériologiste japonais Kiyoshi SHIGA 1897 (Nicolas *et al.*, 2007). Les *shigelles* sont des bactéries strictement humaines, sont des entérobactéries à tropisme exclusivement digestive, très proche d'*Escherichia coli* mais agazogènes et qui ne fermentent pas le lactose. Le groupe *Shigella* est subdivisé en quatre sérogroupes (*Shigelladysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, et *Shigella sonnei*) selon les profils épidémiologiques et pathogéniques (Chattaway *et al.*, 2017). Les *Shigella* occupent la muqueuse de la partie terminale de l'iléon et du gros intestin. Chez l'adulte, elles sont la cause des colites infectieuses et chez l'enfant de gastro-entérites sévères avec diarrhée mucopurulente et sanglante, fièvre et déshydratation (Hale & Keusch, 1996). La morphologie des *Shigelles* est celle des entérobactéries, bacilles à Gram négatif, aéroanaérobies, cultivent sur milieu ordinaire, fermentant le glucose, les colonies apparaissent en 24 heures, de 2 à 3 mm de type S (smooth), à bords réguliers Elles sont toujours immobiles mais animées de mouvements pendulaires sur place. Cependant, la plupart des caractères biochimiques sont négatifs, non gazogène (sauf variété de *S. flexneri*), H₂S, uréase, LDC, ONPG, citrate Simons). L'identification de la *Shigella* est complétée par un antibiogramme en raison de la fréquence de la résistance acquise aux antibiotiques chez ces bactéries (Cohen *et al.*, 2004).

1.4.4. *Proteus*

Le genre *Proteus* a été découvert par un pathologiste allemand nommé Gustav Hauser en 1885 (Drzewiecka, 2016). Le genre *Proteus* est affilié dans la tribu des *Proteae* de la famille des *Enterobacteriaceae*. Actuellement, ce genre rassemble donc quatre espèces

Proteus vulgaris, *Proteus hauseri*, *Proteus mirabilis*, *Proteus penneri*, ainsi que trois genomospecies encore non baptisées (O'Hara *et al.*, 2000). Les *Proteus* sont des bacilles à Gram négatif polymorphes, très mobiles, non sporulés, non-capsulés et il dégage une odeur pourrie. Les *Proteus* ne sont pas des bactéries exigeantes. Elles poussent bien sur des milieux ordinaires, ils produisent des cellules de forme allongées abondamment couvertes de flagelles agissant de concert pour produire une motilité croissante sur les milieux solides. En milieu gélosé les *Proteus* peuvent envahir la surface de milieu, ces bactéries présentent une odeur désagréable caractéristique. Les *Proteus* se distinguent facilement des autres entérobactéries par leurs caractères biochimiques à savoir : uréase très active, la production d'H₂S, possèdent une gélatinase et leur pouvoir glucidolytique faible avec une résistance naturelle à la colistine (Sougakoff & Trystram, 2003). Les espèces du genre *Proteus* sont le plus souvent considérées comme pathogènes chez les enfants et opportunistes chez les personnes âgées et immunodéprimées. On les rencontre dans les infections urinaires chroniques, dans les méningites otogènes du nourrisson, parfois dans des septicémies (Coker *et al.*, 2000).

D'une manière générale, les *Proteus* sont sensible à l'action de ces antibiotiques : les quinolones, les aminosides et l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (Schultz-Ascensio, 2018).

1.4.5. *Salmonella*

Le genre *Salmonella* a été découvert pour la première fois par Karl Joseph Eberth, Bien que cette bactérie ait isolée pour la première fois par T. Smith, Daniel Elmer Salmon d'où le nom du genre *Salmonella* (Schultz, 2008). Le genre *Salmonella* affiliée aux *Enterobacteriaceae* est non sporulé, mobiles grâce à des flagelles péritriches, à l'exception de *Salmonella Gallinarum*. Les espèces de *Salmonella* sont des bacilles mesurant 2 et 5 µm de longueur sur 0,7 à 1,5 µm de largeur (Korsak *et al.*, 2004). Le Genre *Salmonella* est affiliée à la Famille d'*Enterobacteriaceae* et de l'ordre d'*Enterobacteriales*, la classe *Gammaproteobacteria* et au le Phylum des *Proteobacteria*. Le genre *Salmonella* ne comporte que deux espèces à savoir : *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori* (Tindall *et al.*, 2005).

Comme pour toutes les *Enterobacteriaceae* après une nuit d'incubation à 37°C sur un milieu ordinaire, les colonies obtenues ont un diamètre de 3 à 4 mm. Elles sont blanchâtres, circulaires, limitées par un bord régulier, légèrement bombées, et apparaissent lors de l'isolement sous forme S (Denis *et al.*, 2016). Les espèces du genre *Salmonella* se caractérisent par l'absence d'uréase et de tryptophane désaminase, l'absence de production d'indole et d'acétoïne, l'absence de fermentation du lactose et la capacité fréquente de croître sur milieu au citrate de Simmons (Korsak *et al.*, 2004). Les deux espèces du genre *Salmonella*

se distinguent suivant les caractères biochimiques. A l'opposé de *Salmonella enterica*, *Salmonellabongori* ne fermente pas le sorbitol et se développe sur un milieu contenant du cyanure de potassium (KCN). La salmonellose est une fièvre typhoïde et paratyphoïde d'origine alimentaire, causées par *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi* (Denis et al., 2016).

I.4.6. *Yersinia* :

Le nom *Yersinia* fut proposé dès 1944 en l'honneur d'Alexandre Yersin qui isola et identifia la bactérie responsable de la peste en 1894 (Lemaitre & Simonet, 2020). Le genre *Yersinia* regroupe des bacilles à Gram négatif, parfois coccobacillaires de 0.5-0.8µm de diamètre et 1-3µm de longueur. Sous microscope, elle présente parfois une coloration bipolaire, non capsulés, non sporulés, immobiles à 37 °C et pour certaines espèces mobiles à 30 °C. Les bactéries du genre de *Yersiniase* développent à une température optimale de 30 à 32 °C, et leur virulence ne s'exprime qu'à 37 °C. Affiliée au *Enterobacteriaceae*, les espèces de *Yersiniase* distingue par une oxydase négative, catalase positive, aéro-anaérobies facultatifs, fermentation du glucose et le plus souvent réduction des nitrates en nitrites. Elles produisent une uréase très active, mais elles ne produisent pas de tryptophane désaminase (Denis et al., 2016). Le genre *Yersiniase* regroupe de nombreuses espèces, mais en milieu clinique on distingue trois espèces pathogènes à savoir : *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* et *Y. enterocolitica*. *Y. pseudotuberculosis* et *Y. enterocolitica*. Ces dernières sont des agents causals de diverses pathologies telles que la yersiniose et la peste (Avril et al., 2000, Denis et al., 2016; Lemaitre & Simonet, 2020).

2. Les Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes

2.1. Mécanisme de résistance aux carbapénèmases

Les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC) constituent un problème de santé publique croissant. Il existe trois mécanismes principaux par lesquels les entérobactéries deviennent résistantes aux carbapénèmes : production d'enzymes, pompes d'efflux et mutations des pores (Haidar et al., 2017). Pour être clair, on peut classer ces mécanismes en deux sous-groupes principaux : les ERC produisant des Carbapénèmases et les ERC ne produisant pas des carbapénèmases.

2.1.1. Entérobactéries résistantes aux carbapénème ne produisant pas des Carbapénèmases

La membrane externe est la première ligne de défense pour les bactéries à Gram négatif. Elle est composée d'une bicouche lipidique qui est imperméable aux grosses molécules chargées, l'efflux est contrôlé par les porines. Ces dernières sont des protéines

formant des canaux pour le passage par diffusion de molécules hydrophiles, parmi lesquelles se trouvent les antibiotiques. Les entérobactéries peuvent présenter des modifications de la perméabilité de la membrane extérieure par un changement dans le type de porine qu'ils expriment une réduction du niveau d'expression ou la présence d'une porine mutée (**Pagès et al., 2008**). Lorsque ce mécanisme est couplée à l'expression de la β -lactamase (BLSE) aux hyperproductions de céphalosporinases rendent ces bactérie résistante aux carbapénèmes. Ce mécanisme de résistance est identifiée chez des bactéries ayant une céphalosporinase naturelle telles que *Serratiaspp.*, *Morganellamorganii*, *Citrobacterfreundii* et chez des bactéries ayant acquis une céphalosporinase plasmidique ou une BLSE (TEM, SHV, CTX-M...), tels *Klebsiellapneumoniae*, *Proteux mirabilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp* (**Holman et al., 2010**)

La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes est identifiée chez des espèces qui produisent naturellement des céphalosporinases. La surexpression de ces céphalosporinases chromosomique associé à la diminution de la perméabilité de la membrane externe est à l'origine de la résistance aux carbapénèmes. Cela est observé chez *Enterobacterspp.*, *M. morganii*, *C. freundii* et *Serratiaspp.*, avec des modifications des porines OmpF et OmpC. D'autres espèces d'entérobactéries qui n'expriment pas la céphalosporinases naturellement mais qui expriment des céphalosporinases AmpC plasmidiques comme *E.coli* (modifications d'OmpF et d'OmpC), *K.pneumoniae* (modifications d'OmpK35/36) et *SalmonellaTyphimurium* (modifications d'OmpF) (**Nordmann et al., 2010**).

La production de BLSE d'origine plasmidique est associée à une détérioration de la perméabilité membranaire. Cette dernière, peut aussi entraîner une résistance au carbapénème. Ce mécanisme est observé chez tous les entérobactéries, particulièrement chez *K. pneumoniae*, et *E.coli*. Dernièrement des isolats de *K. pneumoniae* producteurs de BLSE et résistants à l'ertapénem sont identifiés à l'Italie, avec l'attribution d'une nouvelle porine, OmpK36 variant. Pareillement chez *E.aerogenes*, la surexpression d'une pompe d'efflux, AcrA, a été à l'origine d'une résistance à l'imipénème. D'autres études ont montré que des souches de *K.pneumoniae* et de *E.coli* productrices de CTX-M elle devient résistante par imperméabilité membranaire lorsqu'elle sont soumises à des concentrations élevés d'ertapénem (**Riethmuller, 2013**).

D'autre part les bactéries possèdent de nombreuses pompes d'efflux qui leur permettent de s'adapter aux stress générés par des molécules toxiques, incluant les antibiotiques. Les pompes d'efflux bactériennes sont classées selon leur conformation structurelle, le nombre de domaines transmembranaires, la source d'énergie utilisée, les

substrats efflués ainsi que leurs capacités à s'associer à d'autres protéines en six familles. De ce fait, on distingue: la superfamille des ABC (Adenosine triphosphate-Binding Cassette), la superfamille des MFS (Major Facilitator Superfamily), la famille des MATE (Multidrug And Toxic compound Extrusion), celle des SMR (Small Multidrug Resistance), celle des RND (Resistance Nodulation cell Division), et enfin la famille des PACE (Proteobacterial Antimicrobial Compounds Efflux) (**Boulant *et al.*, 2020**). Les pompes d'efflux des familles RND qui est retrouvées uniquement chez les bactéries à Gram négative sont l'un des mécanismes majeur de la multirésistance aux antibiotiques chez les entérobactéries. Ces derniers permettent l'exportation directe des antibiotiques dans le milieu extérieur plutôt que dans l'espace périplasmique (**Suay-García & Pérez-Gracia, 2019**). La figure 1 illustre ces différents mécanismes.

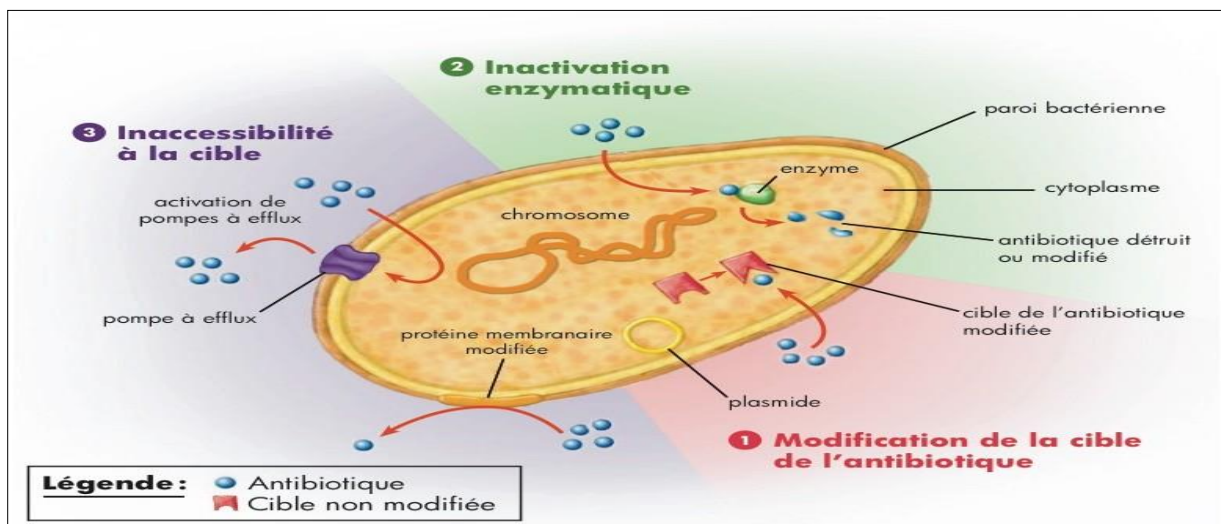


Figure 1 : Mécanisme de Résistance chez les bacilles à Gram négatif (**Coustes, 2016**)

2.1.2. Les ERC produisant des Carbapénémases

Chez les entérobactéries, la production d'enzymes hydrolytiques tels que les β lactamases est le mécanisme de résistance prédominant contre l'action des β lactame. Les β lactamases sont classées suivant deux systèmes de classification, à savoir : Bush-Jacoby-Medeiros basé sur leur fonction biochimique et le système Ambler basé sur des informations sur les séquences d'acides aminés (**Brandt *et al.*, 2017**). En se basant sur la structure primaire des enzymes et les classes moléculaire, cette dernière classification divise les β -lactamases en quatre classes à savoir : la classe A pénicillines de type sérine-protéase inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam, C céphalosporinases insensibles à l'acide clavulanique mais inhibées par la cloxacilline. La classe D oxacillines hydrolysant la cloxacilline et peut-être inhibées par l'acide clavulanique ces classes représente les β -lactamases ayant une sérine en

site actif. Par contre la classe moléculaire B est constituée de métallo-enzymes, dont le site actif contient des ions zinc, résistantes à l'acide clavulanique mais inhibées par l'EDTA(Ambler, 1980).La résistance aux carbapénèmes est liée à l'expression de β lactamasesà forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes, les carbapénémases. Elles sont considérées comme l'une des β lactamasesles plus puissantes disponibles en milieu clinique. A cause de l'efficacité de presque toutes les β lactames. Les entérobactéries résistantes au carbapénème peuvent produire une grande variété de carbapénémases affiliées aux classes A,B,D. telles que le KPC (classe A), le NDM (classe B) et l'OXA-48 (classe D) prolifèrent dans le monde entier (Tooke *et al.*, 2019).

2.1.2.1. Carbapénémases de classe A

Les β -lactamases de classe A sont les plus largement distribué et étudié intensivement de tous les β -lactamases. Cette classe comprennent le plus grand nombre d'enzymes à très large spectre d'activité(Tooke *et al.*, 2019).Ces enzymes, même si elles sont faiblement liées en termes d'identité de séquence, elles partagent des caractéristiques structurales et un mécanisme d'action commun. Les β -lactamases de classe A hydrolysent de manière variable toutes les β lactames(les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes) et sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam(Naas, Dortet, & I Iorga, 2016). Parmi les enzymes de classe A, on peut citer le TEM, SHV comme la cause principale de la résistance à l'ampicilline dans *Escherichia coli* et *Klebsiellapneumoniae* respectivement, avant l'émergence des β -lactamases à spectre étendu. En outre, il existe d'autres β lactamases telles que les ESBL comme le CTX-M ou la carbapénémase comme le KPC(Bush & Bradford, 2019).

Les carbapénémases incluses dans la classe A d'Ambler peuvent être codées soit par chromosomes ou soit par plasmide. Il y a tout d'abord le sous-groupe des enzymes codées chromosomiquement : SME, NMC et IMI. SME-1 était la première à être détectée en Angleterre en 1982 sur deux souches de *Serratiamarcescens*. Cette famille inclus les trois variantes (SME-1, -2, et -3) qui ont été décrits aux Etats Unis et en Angleterre uniquement. Le second sous-groupe est celui des enzymes codées par les plasmides : KPC et GES. La première détection des enzymes GES a été enregistré en 2000 en Guyane, cette famille comprend à l'heure actuel 20 variantes. Elles sont considérées comme des BLSE à cause de leur capacité à hydrolyser les céphalosporinases de troisième génération. Elles ont une structure qui se rapproche à la BLSE GES1, dont elles diffèrent que par de simples mutations ponctuelles d'acides aminés ce qui explique l'accroissement de leur spectre et une hydrolyse faible des carbapénèmes (Radice *et al.*, 2004).

Parmi eux, les enzymes les plus fréquentes et les plus menaçantes, sont les carbapénèmases de type KPC (KPC-2 à KPC-8). Ces derniers sont répandues dans le monde entier et ont été isolées dans la plupart des espèces d'entérobactérie cliniquement importantes (Nordmann *et al.*, 2011). Les enzymes KPC sont les enzymes les plus importantes cliniquement parmi les carbapénèmases de classe A, en raison de sa localisation sur des plasmides autoconjugués et ensuite parce qu'elle est fréquemment retrouvée chez *Klebsiellapneumoniae*, une bactérie connue pour accumuler et transmettre des résistances dans les établissements de soins de santé (Rapp & Urban, 2012). Le premier membre de la famille KPC a été découvert dans un isolat clinique de *K. pneumoniae* en Caroline du Nord L'est des Etats-Unis en 1996. Dont la transmission plasmidique permet une dissémination à de nombreuses espèces bactériennes, treize variantes de KPC sont connues à ce jour, KPC-2 et KPC-3 sont les variantes mondiales les plus fréquentes. Génétiquement, les enzymes KPC sont généralement associés à un seul élément génétique : Tn4401, un transposon de type Tn3 de 10 Kb. Ce dernière peuvent être assurés cette large diffusion de ces gènes KPC (Naas *et al.*, 2016).

2.1.2.2. Carbapénèmases de classe B

Les premières carbapénèmases de classe B identifiées (BCII, CcrA, CphA et L1) étaient des enzymes chromosomiques présentes chez des bactéries de l'environnement ou des Pathogènes opportunistes comme *Bacillus cereus*, *Aeromonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* ou *Bacteroides fragilis*. La prévalence des gènes chromosomique de M β L est directement liée à celle des espèces productrices car elle ne s'avère pas transférables (Grall *et al.*, 2011). Les métallo- β -lactamases (M β L) comme VIM, IMP, NDM, SPM, et GIM correspondent à la classe B de la classification d'Ambler et au groupe 3 de la classification fonctionnelle de Bush. Elles diffèrent des sérines carbapénèmases par la présence d'ions zinc au niveau du site actif qui catalysent la réaction enzymatique. Elles comptent actuellement plus de 80 enzymes découvertes à travers le monde dans de nombreuses espèces, plus de 75 % de ces gènes sont portés par des plasmides (Bush, 2010). La première acquisition de β -métallo-lactamases, IMP-1 a été rapporté chez *Serratiamarcescens* au Japon en 1991 (Ito *et al.*, 1995). Depuis, les MBL ont été décrit à travers le monde. L'endémicité du VIM et des enzymes de type IMP ont été signalé en Grèce, Taiwan et au Japon. La pluparts des M β L sont d'acquisition hospitalière (Nordmann *et al.*, 2011). Les M β L de type VIM ont été isolée pour la première fois en 1996 et 1997 dans une souche de *P. aeruginosa* en Italie à Vérone (VIM-1) (Grall *et al.*, 2011) et en France à Marseille (VIM-2) (Poirel *et al.*, 2000), à la fin des années 1990, début d'années 2000, plusieurs rapports d' M β L plus précisément de VIM ont été abordés

chez les entérobactéries. Actuellement le VIM-2 est le type le plus courant d' M β L dans le monde avec au moins 46 variantes 46 bla_{VIM} désormais répertorié (Logan & Weinstein, 2017). Il est à noter que l'épidémie d'entérobactéries productrices de M β L a considérablement augmenté en 2008 suite à la découverte d'un ST14 *K. pneumoniae* avec un nouveau gène d' M β L, bla_{NDM-1} provenant d'un patient suédois qui a reçu des soins à New Delhi en Inde. Depuis, une propagation mondiale d'NDM avec un transfert rapide des gènes entre espèces a été observé dans les régions d'endémicité. Il existe actuellement 16 variantes catalogué d'NDM de bla_{NDM-1} au bla_{NDM-16}. Malgré la grande divergence dans les séquences d'acides aminés, toutes les carbapénèmases de type M β L s ont les propriétés suivantes : elles hydrolysent largement les carbapénèmes, résistent aux inhibiteurs de β -lactamases et elles sont inhibées par des agents chélateurs du zinc comme l'EDTA mais aussi par l'acide dipicolinique. Elles hydrolysent toutes les β -lactames à l'exception de l'aztréoname. L'acide clavulanique, l'acide boronique ou le tazobactam n'exercent aucune activité inhibitrice sur ces enzymes (Walsh *et al.*, 2005).

2.1.2.3. Carbapénèmases de classe D

Les carbapénèmases de classe D regroupent les enzymes de type oxacillinases à activité carbapénèmases. Elles incluent plus de 232 enzymes avec peu de variantes possédant la même activité carbapénèmases. Les OXA ont été décrit chez *P. aeruginosa* mais jusqu'à maintenant cette carbapénèmase est détecté chez plusieurs bactéries Gram négatives incluant les *Enterobacteriaceae*. (Mathlouthi, 2017). La première oxacillinase (OXA-48) décrite chez *K. pneumoniae* en Turquie en 2001. Elles sont souvent associées à des BLSE. Néanmoins, absence d'autres mécanismes de résistance associés, les OXA n'apporte qu'une légère diminution de la sensibilité aux carbapénèmes (Cavallin, 2019). Elles hydrolysent de façon relativement faible. Contrairement aux autres classes, elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ou l'EDTA, mais par le chlorure de sodium. Les OXA-48 sont différent des autres OXA présentant moins de 50% d'homologie de séquences, en conséquence elle implique un mécanisme d'hydrolyse différent. Leurs détection est difficile et leurs prévalence est souvent sous-estimé suite à leurs bas niveau de résistance au carbapénèmes et avec des CMI généralement classer sensibles ou intermédiaire (Riethmuller, 2013). En France, la première OXA-48 produite par *K. pneumoniae* a été identifié à Paris en 2009, depuis les expectorations d'un patient transféré de Tunisie, par la suite plusieurs ont été trouvé chez des patients transféré des pays méditerranéen : Algérie, Turquie, Egypte, Libye, Tunisie et Maroc. L'Afrique du Nord est considérée comme le réservoir des producteurs d'oxacillinase, en

particulier OXA-48 qui représente le type le plus courant dans cette région. En Algérie plusieurs études ont signalé l'émergence et la propagation des carbapénèmases. En effet en 2010 un isolat d'*A. baumannii* portant le gène bla_{OXA-23} était identifié chez un patient en Algérie. En 2012, d'autres travaux ont été publiés signalant l'émergence des gènes bla_{OXA-23} et bla_{OXA-58} chez *A. baumannii* multi-résistante au CHU de Annaba. La même année il a été démontré que les 71 souches d'*A. baumannii* récupérées sur une période de 17 mois qui s'étend de mars 2010 à juillet 2011 réalisées au deux CHU était positives pour le gène bla_{OXA-51}. Le gène bla_{OXA-23}-like a également été détecté chez 29 souches résistantes à l'imipénème. De plus, le gène bla_{OXA-72} a été détecté chez cinq souches résistantes à l'imipénème isolées dans une unité de soins intensifs Algérienne. En 2013, *Acinetobacter* spp hébergeant les gènes bla_{OXA-23} et bla_{OXA-24} a été démontré dans l'ouest de l'Algérie. Parmi les 113 isolats, 80 (70,8%) se sont révélés résistants à l'imipénème avec CMI allant de 64 à 512 mg / ml. Le gène bla_{OXA-23}-like a été détecté dans 50% (40/80) des isolats, et le gène de type bla_{OXA-24} dans 21,2% (17 /80) des isolats (Mathlouthi, 2017). Une étude menée à l'hôpital militaire de Constantine, 1602 infections ont été diagnostiquées, les souches d'*E. coli* étaient isolées dans 448 des cas, 48,3 % d'entérobactéries, dont 94 (20,1) d'entre elles étaient multi-résistantes, parmi les 94 isolats une présentait une résistance à l'ertapénème (1,1%), cette souche portait le gène bla_{OXA-48} (Agabou *et al.*, 2014). En 2019, une étude de la prévalence et des caractéristiques moléculaires de la production d'OXA-48 des souches d'Entérobactéries récupérées dans diverses niches écologiques réparties en six provinces en Algérie entre décembre 2015 et avril 2017 a été publiée. Au total, parmi les 3309 échantillons collectés, 78 isolats d'entérobactéries sont producteurs d'OXA48. L'analyse des plasmides a confirmé que tous les isolats hébergeaient un plasmide transférable très similaire avec une structure similaire au pOXA-48a plasmide porté par la souche *K. pneumoniae* Kp11978, c'est ce qui contribue à la dissémination et au transfert de ces gènes à diverses bactéries parmi différentes sources (Mairi *et al.*, 2018). la figure ci-dessous montre les différentes enzymes Carbapénèmase en d'Algérie.

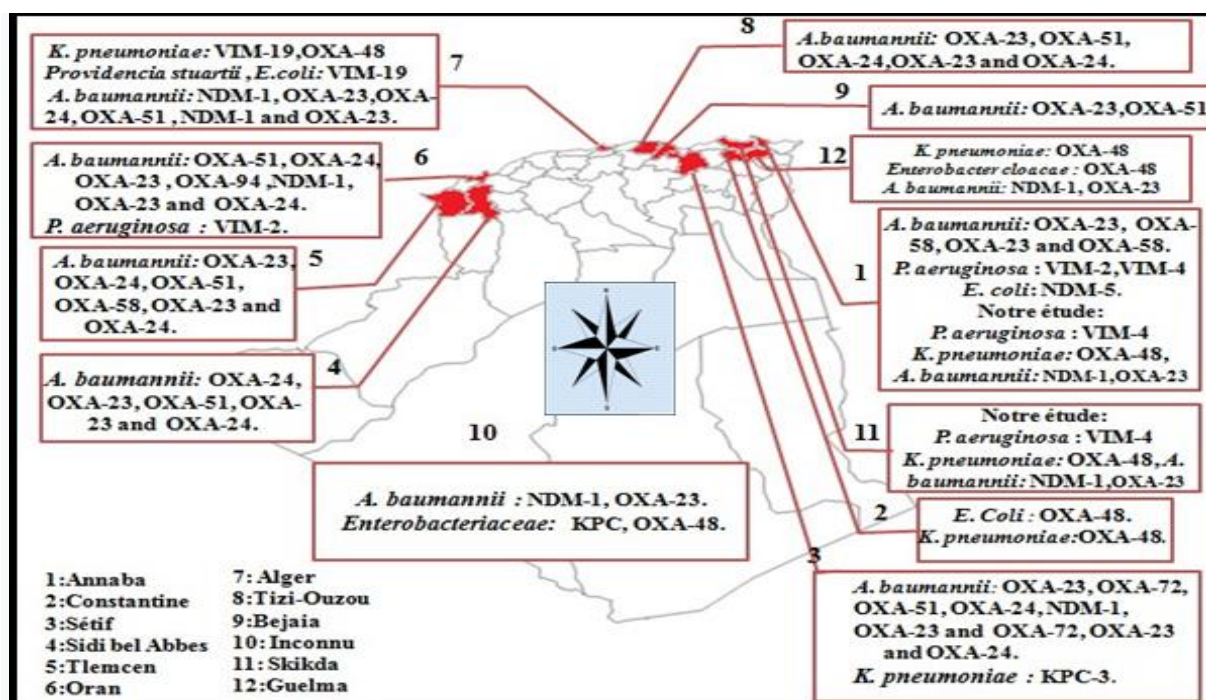


Figure 2 : Carbapénèmes décrites dans des souches cliniques des bacilles à Gram négatif de l'Algérie (Mellouk *et al.*, 2017).

2.2. La génétique de la résistance aux carbapénèmes

La dissémination des souches résistantes et l'apparition des nouveaux mécanismes de résistance notamment les β -lactamases, posent des sérieux de problèmes au monde médical. La résistance bactérienne aux antibiotiques résulte soit par mécanisme enzymatique ou par des mécanismes non enzymatiques peuvent être exprimés intrinsèquement ; tels que l'AmpC β -lactamase des bactéries gram-négatives (Aleksun & Levy, 2007) et la résistance à la vancomycine chez elles, car l'incapacité de cette molécule pénétrer dans la membrane extérieure (Ruppé, Woerther, & Barbier, 2015), ou peuvent développer de nouveaux mécanismes de résistance, ce qui implique des changements génétiques. Ces changements suivent de deux stratégies génétiques majeures :

2.2.1. mutation spontanée :

Les mutations des gènes chromosomiques entraînent une augmentation de l'expression des mécanismes de résistance intrinsèque, des altérations de la perméabilité par perte de pores de la membrane extérieure, ou des modifications de la cible. Dans ce cas-là les gènes de résistance seront transmis verticalement à la descendance.

2.2.2. l'acquisition de gènes de résistance

L'acquisition des gènes de résistance par les bactéries suit trois stratégies principales à savoir : transformation, transduction et conjugaison. En général, une bactérie peut acquérir du matériel génétique étranger par incorporation de segments d'ADN libre dans leur

chromosome c'est la transformation. Des gènes de résistance peuvent aussi être transférés lors de phénomène de conjugaison principalement associé aux éléments tels que le plasmide ou le transposon et lors d'une infection par un bactériophage on parlera de la transduction. Dans cette stratégie les gènes de résistance seront transmises soit verticalement à la descendance, soit horizontalement dans le même genre ou des genres très différents (Carle, 2009).

2.2.3. Éléments génétiques mobiles

Le transfert génétique entre les bactéries explique probablement une grande partie de la propagation de la résistance. Ce processus, connu sous le nom de transfert horizontal de gènes. Les éléments génétiques mobiles médiateurs du transfert horizontal sont les transposons et les plasmides et des cassettes de résistances insérées sur un intégrons.

Les transposons sont des éléments d'ADN qui confèrent une flexibilité au génome. Comme ils sont capables de se déplacer d'un endroit à un autre sur un même brin d'ADN ou sur un autre brin, pour cette raison, on les appelle des gènes sauteurs. Cependant, certains transposons sont en général conservés au site d'insertion dans le génome. Les transposons ont été regroupés en deux classes structurales, la classes I qui sont des transposons composites, encadrés par deux copies de la même IS et la classe II différent, dans leur structure, par rapport aux transposons de classe I. Ces transposons n'ont pas deux copies d'une IS mais une séquence d'ADN incluse entre deux séquences répétées inversées. Cette séquence d'ADN sont généralement porteuse de gènes supplémentaires pour la résistance aux antibiotique (Babakhani & Oloomi, 2018; Djenadi, 2019).

Sachant que les transposons, eux-mêmes portés sur des plasmides conjugatifs, sont responsables de la transmission de la majorité des carbapénèmases produites par les entérobactéries telles que le transposon Tn4401 qui est considéré comme l'origine de la diffusion des gènes de KPC (Cerdeira *et al.*, 2017). La mobilité d'un transposon peut augmenter s'il s'intègre dans un plasmide qui est ensuite transmis à d'autres cellules par conjugaison ou de transformation.

Le deuxième élément médiateurs de transfert horizontal de gènes sont les plasmides qui sont définis comme des molécules d'ADN indépendantes du chromosome que l'on trouve dans les cytoplasmes des bactéries en tant que fragments génétiques bicaténaires circulaires indépendants capables d'autoréplication. Les plasmides bactériens ne sont pas essentiels à la survie de la bactérie, mais représentent une importance toute particulière dans l'étude des phénomènes de résistance car ils constituent le vecteur de premier plan pour la dissémination des résistances en acquérant des gènes de résistance par transfert horizontal de gènes et, par conséquent, augmenter la diversité génétique des bactéries.

Au sein des entérobactéries, les plasmides portent plusieurs gènes de résistance, y compris : la résistance aux β -lactames (bla_{KPC-3} , bla_{TEM-1} , bla_{OXA-9}), la résistance aux aminosides ($aacA4$, $aadA1$, $strA$, $strB$), la résistance aux sulfonamides ($sul2$) et la résistance au triméthoprime ($dfrA14$). Plusieurs systèmes de classifications des plasmides dont celui basé sur les groupes d'incompatibilité (Inc). Dans ce système, deux plasmides appartenant au même groupe d'incompatibilité ne peuvent coexister dans la même bactérie et s'excluent mutuellement. Les types d'incompatibilité les plus courants chez les entérobactéries Selon kopostaet ces collaborateurs sont les plasmides IncF. Ces derniers sont signalés dans différentes sources dans le monde entier. Sachant que les plasmides pBK30683 (140 kb) et pBK30661 (73,6 kb) sont des exemples de plasmides IncF de *K. pneumoniae* porteurs de KPC (Djenadi, 2019 ; Kopotsa *et al.*, 2019).

Le troisième élément médiateurs du transfert horizontal sont les intégrons. Les intégrons jouent un rôle majeur dans l'acquisition, l'expression et dans la dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques. Les intégrons représentent un vecteur majeur de multi-résistance chez les bactéries à Gram négatif. Ils ne sont pas doués de mobilité propre, mais tirent profit des EGM comme les plasmides ou les transposons, Plusieurs études ont montré que cette association augmentaient l'abondance des phénomènes de conjugaison et transposition. Structurellement les intégrons ont une organisation commune est constitué d'une plateforme fonctionnelle aussi appelée région 5' conservée (« 5' CS »). Elle comporte trois éléments clés à savoir : un gène $intI$ et son promoteur P_{intI} qui code une intégrase $IntI$, un site de recombinaison spécifique $attI$, et un promoteur P_c (« Promoteur des cassettes ») et d'une partie variable représentée par un réseau de cassettes (El Salabi *et al.*, 2013; Djenadi, 2019; Shakib, 2020) ; .Les intégrons peuvent être divisés en deux groupes majeurs dont mobiles et Les intégrons chromosomiques sédentaires ou super-intégrants. Ces derniers sont répartis en 4 classes : trois d'entre elles (classes 1, 2 et 3), bien caractérisées, sont impliquées à ce jour dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques (les intégrons de résistance) et la quatrième classe sont des super-intégrons (Nivina *et al.*, 2016). Les classes 1, 2 et 3 sont le plus souvent identifiées chez les bactéries Gram-négatives. La classe 1 joue un rôle important dans la dissémination des gènes codant pour la carbapénémases tel que M β L (El Salabi *et al.*, 2013).

Chapitre III : Le transport et la diffusion de la résistance aux carbapénèmes

1. Microbiote intestinal et le résistome

Le microbiote intestinal est l'ensemble de bactéries qui peuplent le tube digestif. Il est considéré comme un organe métabolique pour son hôte grâce aux nombreuses fonctions essentielles qu'il assure. L'une de ses propriétés majeures est d'assurer un effet barrière, c'est-à-dire d'empêcher l'implantation durable d'une bactérie exogène. Il héberge le plus grand nombre de bactéries, la densité n'est que de quelques centaines de bactéries par gramme dans l'estomac. Elle atteint son maximum dans le côlon distal avec 10^{11} bactéries par gramme. Au total, ce sont donc plus de 10^{14} bactéries qui colonisent notre tube digestif, c'est-à-dire chez un individu sain, elle représente dix fois plus que le nombre de cellules eucaryotes constituant le corps humain (**Ruppé, 2015**). La plus part des bactéries du microbiote intestinal sont des bactéries anaérobies strictes sont rarement rencontrées comme pathogènes pour l'homme. Ce sont par ailleurs des bactéries difficiles à cultiver et leurs caractères phénotypiques, tels que leur sensibilité aux antibiotiques, restent mal connus. À l'inverse les bactéries du microbiote intestinal les plus fréquemment rencontrées en pathologie humaine, les entérobactéries, (*Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae*, *Enterobactersp.*, *Salmonella enterica*, *Proteus sp.*, *Shigella sp.*). Ces dernières sont moins abondantes dans le microbiote intestinal (10^7 à 10^8 par gramme de selles). Mais qui sont largement étudié, essentiellement pour leurs mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Ruppé & Anderemont,2013**).

Le résistome est l'ensemble des gènes de résistance aux antibiotiques présents dans le microbiote intestinal. On distingue le résistome endogène ou « résident » composé par les bactéries du microbiote résident de l'hôte. Il inclue des gènes de résistance chromosomiques non associés à des structures mobiles, et le résistome exogène ou variable, composé par des gènes de résistance apportés par des bactéries en transit dans le microbiote, souvent associé à des structures mobiles (de type plasmides ou transposons), qui peuvent être échangés avec les bactéries résidentes de l'hôte (**Gérard,2011**). Comme le montre la Figure ci-après.

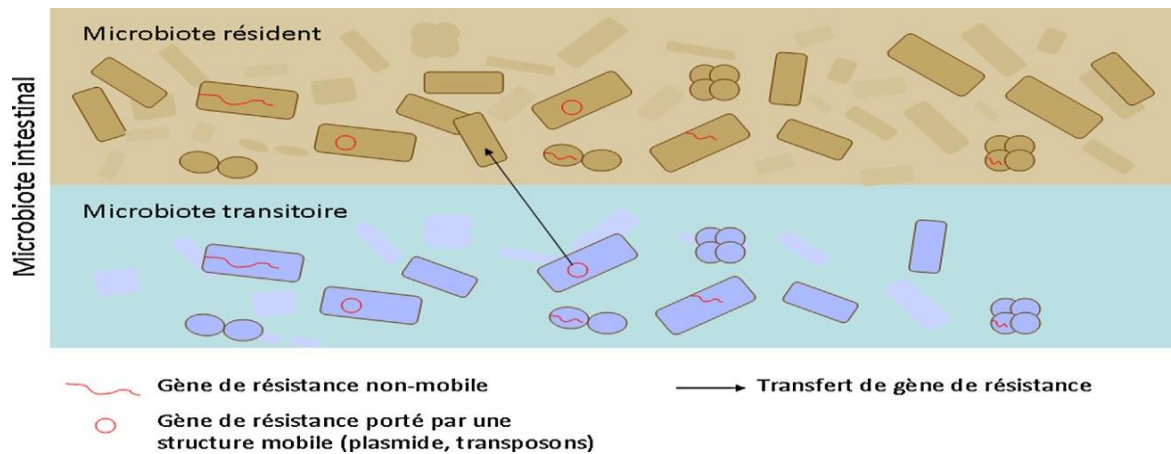


Figure 3 : Représentation schématique du résistome intestinal (Ruppé & Andremont, 2013).

2. Ecologie bactérienne au service réanimation :

Les unités de réanimation recueillent des patients à risque très important et dont la survie est menacée par la survenue brutale d'une ou plusieurs défaillances de fonctions essentielles à la vie. (Brun-Buisson, 2005). La prise en charge des infectieuses bactériennes, représente une part importante de l'activité en milieu de réanimation. Environ 20 % des patients admis en service de réanimation montrent à l'entrée une pathologie infectieuse dont l'origine n'est communautaire que dans 55 % des cas. De plus, près de 20 % des patients hospitalisés plus de 24 heures en réanimation acquièrent une infection nosocomiale au cours de leur hébergement en réanimation (Leroy *et al.*, 2006). Plusieurs travaux ont montré la diminution du taux d'infections nosocomiales au moment de l'amélioration des conditions architecturales et son organisation en trois zones (zone filtre, zone technique et zone d'hospitalisation) est recommandée la disposition d'une chambre individuelle pour chaque patient est aussi recommandée. La filtration de l'air servant à ventiler l'ensemble des chambres de réanimation est indispensable et doit être renouvelé six à dix fois par heure. Sans oublier les conditions d'hygiène générales, en revanche certains auteurs sont arrivés à la conclusion qu'il n'existe pas de lien direct entre l'architecture et les infections nosocomiales (Mallaret, 2002).

Les patients hospitalisés en réanimation sont considérés comme des patients à haut risque aspergillaire de ce fait certaines conditions doivent être respectés : surpression de 15 Pa, renouvellement d'air 20 volumes par heure au minimum, filtre terminal HEPA. La gestion de la qualité d'eau est aussi importante. Le contrôle de la qualité d'eau par des prélèvements bactériologiques est recommandé dans les unités de soins intensifs. Les précautions standard

sont obligatoires pour prévenir la transmission des germes, et contrôler les bactéries multirésistantes (**Dali, 2015**).

Les entérobactéries constituent la principale source d'infections communautaires et hospitalière, l'isolement des EPC dans une population immunodéprimée comme les patients en réanimation est d'autant plus inquiétante, le séjour en milieu de réanimation est en lui-même est considéré comme facteur de risque d'acquisition d'EPC. Une étude sur les patients ayant été hospitalisé au service de réanimation des brûlés du Centre de Traumatologie et des Grands brûlés en Tunisie a révélé une prévalence d'infections était de 7% (13/174) neuf de ces patients avait été transféré d'autres unités de réanimation, la durée moyenne d'hospitalisation était de 12 jours. Treize épisodes infectieux à savoir 7 bactériémies, 2 pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM), et 4 infections liées au cathéter sont causées par quinze souches d'EPC. Deux souches d'EPCs d'espèces différentes ont été retrouvées dans les hémocultures de deux patients. Le séjour en milieu de réanimation, l'exposition aux antibiotiques, au cathétérisme central et à la ventilation mécanique sont également des facteurs de risque d'infection à EPC. Les résultats obtenus d'une autre étude sur les facteurs prédictifs d'acquisition de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes (BGN-RC) en milieu de réanimation a révélé que la prévalence de portage de BGN-RC à l'admission était de 2,9% et passait à 6,6% après un séjour en unité de réanimation. Une étude similaire a révélé que la prévalence d'acquisition en unité de réanimation médicale était supérieure à celle en milieu de réanimation chirurgicale (9,4% contre 4%), en raison du nombre plus élevé de prescriptions d'antibiotiques en réanimation médicale (**Marchenay et al.,2015**).

3. Maitrise des infections nosocomiale en réanimation

Une infection est appelée nosocomiale lorsqu'elle apparait au cours ou à la suite d'une hospitalisation mais qui était absente à l'admission. Quand la situation spécifiée à l'admission n'est pas connue, une période d'incubation de 48 heures est indispensable, pour discerner une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire. Pour les infections du site opératoire elles sont considéré comme nosocomiales lorsqu'elles surviennent dans les 30 jours suivant l'intervention ou lors de la mise en place d'une prothèse ou d'un implant, durant l'année qui suit l'intervention.

L'infection nosocomiale est lapremièresituation indésirable en fréquence dans le service de réanimation. Les unités de réanimation sont définit comme une niche importante de bactéries multi résistantes et un endroit où la survenue des infections associées aux soins (IAS) est très fréquente. La surveillance épidémiologique des IAS en réanimation est

prioritaire, car les patients ont un risque infectieux accru du fait de leur état critique et des dispositifs invasifs auxquels ils sont exposés et elle constitue le premier pas dans la lutte contre ce fléau. Cette surveillance veille à l'orientation et de mieux cibler les programmes de prévention. D'autre part de rendre plus aisée l'évaluation des actions de lutte. Bien que les réanimations ne comprennent en général qu'une faible proportion des lits hospitaliers (< 5%) ; mais elles constituent la scène d'une forte proportion des infections nosocomiales à l'hôpital. Il est estimé dans de différentes études, que 20 à 25% de l'ensemble des infections nosocomiales sont acquises dans le secteur de réanimation (**Merzougui et al., 2018**).

Une bactériémie associée aux soins (BAS) est une infection qui se développe après deux jours par rapport à l'admission du patient dans le service avec au moins une hémoculture positive sauf pour certains germes qui exigent deux hémocultures positives. Les Bactériémie associée aux soins sont les plus sévères des IAS avec une mortalité allouable de 10% à plus de 50 %, elle entraîne également une prolongation de la durée du séjour hospitalier (**El Kettani et al., 2017**).

4. Maitrise de l'antibiothérapie en réanimation :

Les services de réanimation étant lieu où on consomme une quantité importante d'antibiotiques avec des niveaux de prescription de cinq à dix fois supérieurs à ceux des services de médecine, un patient sur deux a une infection, communautaire ou acquise à l'hôpital, et 50 % des patients hospitalisés en réanimation reçoivent des antibiotiques durant le séjour.

L'émergence et la diffusion de la résistance des entérobactéries aux carbapénèmes est définie comme un dilemme de santé publique. Les infections causées par ces bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) sont associées à des échecs thérapeutiques, une lourde mortalité et à des dépenses élevées (**Bergmans, 1997 ; Benammar, 2017**).

Administrer une antibiothérapie empirique à large spectre afin d'améliorer le pronostic des malades, a un impact négatif sur l'écologie microbienne, que ce soit sur le plan individuel ou collectif. Ce qui incite les réanimateurs à un usage prudent des antibiotiques pour limiter la pression de sélection de souches résistantes. Depuis le début des années 2000, une augmentation remarquable des résistances bactériennes, particulièrement chez les bacilles à Gram négatif (BGN), avec l'émergence d'entérobactéries productrices de carbapénémases résistant à l'imipénem. Cet accroissement de l'incidence des bactéries résistantes provoquées par l'abus d'antibiotiques n'est plus contrebalancé par la production de nouveaux antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif, comme c'était encore le cas y'a une

vingtaine d'années donc l'usage raisonné, et notamment la réduction de la pression de sélection est indispensable afin de préserver les quelques armes restant à notre disposition **(Razazi, 2014)**.

Plusieurs stratégies existent pour choisir un traitement adapté tout en réduisant le risque d'émergence de résistance, L'une de ces stratégies de maîtrise de l'antibiothérapie, est la désescalade antibiotique, à l'heure actuel on ne dispose pas de définition consensuelle précise de la désescalade. D'un point de vue pratique elle consiste à limiter l'émergence de la résistance à l'échelon individuel et collectif **(Leroy, 2006)**. La désescalade a été définie selon les études comme étant la réduction de l'exposition aux antibiotique comparativement à la prescription initiale probabiliste, qui peut comprendre la réduction de durée allant jusqu'à l'arrêt précoce du traitement antimicrobien, la réduction du spectre antibiotique, la « rationalisation » des antibiotiques ou encore la réduction des durées des traitements. Certaines études ont même estimé que le relais par voie orale d'un antibiotique administré par voie intraveineuse constituait aussi une désescalade. Il faut d'ailleurs souligner ici que la désescalade n'est qu'un des éléments d'une politique de bon usage des antibiotiques dans le but de préserver leur efficacité **(Zahar, 2016)**.

Les programmes d'« antibioticstewardship » (bon usage des antibiotiques) ont un rôle primordial dans les services de réanimation. À ce jour, le niveau de mise en œuvre de ces programmes n'est pas connu. La promotion et l'application de ces programmes ne sont pas optimales dans les réanimations. Il est nécessaire de mettre en place des règles de bon usage et un suivi régulier pour une meilleure connaissance **(Delannoy et al., 2019)**.

En réanimation, il est difficile de différencier, un syndrome inflammatoire d'origine infectieuse de celui d'une autre origine, ou de distinguer une colonisation d'une infection réelle. C'est pour cette raison, plusieurs critères cliniques, paracliniques et microbiologies sont pris en considération en diagnostics d'infection. La démarche diagnostique quant à la réalité de l'infection, son site et, particulièrement en réanimation, le(s) germe(s) en cause, est impérative pour justifier la mise en route ou le maintien d'une antibiothérapie. Même en état d'urgence, avant toute mise en route d'un traitement antibiotique, il faut documenter l'infection par des prélèvements à visée bactériologique qui soient interprétables pour renforcer le diagnostic d'infection, en temps réel ou *a posteriori* en cas de traitement empirique dans l'attente des résultats définitifs. Cette démarche ne retarde pas la mise en route du traitement, mais elle améliore la qualité de la prescription par une diminution de la consommation d'antibiotique, de la résistance bactérienne et du taux de surinfections **(Thuong et al.,2004)**.

5. Mécanisme d'infection

Aux services de réanimations deux voies de contamination sont possibles à savoir : la voie endogène, est à l'origine de la majorité des infections hospitalière, la principale source de contamination est le patient lui-même, il s'infecte avec ces propres microorganismes suite à une fragilité ou un acte invasif. La voie exogène dans laquelle le patient est colonisé ou infecté par des bactéries extérieures, provenant d'autres malades, ou de l'environnement de manière directe ou indirecte, cette voie est très répandu en réanimation que dans d'autres secteurs, du fait de la densité des soins, et à l'exposition des malades à une transmission de bactéries d'un malade à l'autre (**Trifi *et al.*,2017 ; Nizar & Mennis,2019**).

Chapitre IV : Stratégie de recherche des EPC dans le portage fécal

1- Echantillonnage :

Les échantillons sont recueillis par la méthode d'écouvillonnage rectal. Les prélèvements sont pris le matin, après l'admission des malades de 24heurs à 48heure, Pour maîtriser la transmission et la diffusion des entérobactéries productrices de carbépnémase en réanimation. Puis la récolte des échantillons de façon hebdomadaire jusqu'à la sortie des patients. Les prélèvements sont immédiatement acheminés au laboratoire de microbiologie. Les échantillons sont accolés à une fiche technique qui comporte les codes correspondant à chaque patient.

2- Isolement et purification

Avant de procéder à l'isolement, une étape d'enrichissement est réalisée par l'introduction des écouvillons dans un bouillon Lauria Bertani additionné d'ertapénem, à raison de 0,5 mg/ml. Après une incubation pendant une nuit à 37 °C, on procède à l'isolement.

L'étape d'isolement se fait sur gélose MacConkey, additionné par les mêmes concentrations. Après 24 h d'incubation, à 37 °C on effectue une observation macroscopique des colonies ayant développé sur le milieu Mac Conkey, Si la culture est poly-microbienne, on passe à l'étape de purification des souches isolées par des repiquages successifs sur le même milieu. Les souches purifiées sont ainsi conservées dans du glycérol (v / v) à -20 °C.

3. Identification

L'identification phénotypique des souches isolées sera élaborée suivant soit la méthode classique des galeries biochimiques (API 20 E), ou bien suivant la méthode de MALDI-TOF SM (Matrix Assisted Laser Desorption And Ionisation –Time Of Flight- Spectrophotometry of Masse). On peut aussi élaborer une identification moléculaire suivant des PCR (Polymorphism Chain Reaction) (Djenadi *et al.*, 2019).

3.1. Identification classique

L'identification classique se base sur une observation microscopique et une galerie biochimique des suspensions bactériennes pure.

3.1.1. Etude microscopique

Dans l'étude microscopique on peut élaborer une observation directe des suspensions bactériennes à G X40, ou bien une observation après coloration de Gram. Sur une lame stérile, on dépose une goutte d'eau physiologique, à l'aide d'une anse de platine stérile on prélève quelques colonies bactériennes, on mélange en rotation jusqu'à obtention d'une goutte

homogène. On passe la lame 3 fois sur le bec bunsen pour fixer le frottis. Par la suite on procède à la coloration et la fixation suivit d'un lavage avec solvant. La lame est plongée pendant 2 à 3 minutes dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis on rince à l'eau déminéralisée. Fixation de la coloration par le Lugol, laissé agir pendant 20 secondes, puis rincer à l'eau déminéralisée. Après on dépose l'alcool goutte à goutte sur la lame inclinée pendant 5 à 10 secondes, puis rincer à l'eau déminéralisée. L'alcool pénètre dans la bactérie. Cette étape permet la décoloration du cytoplasme des bactéries ayant une paroi pauvre en péptidoglycane (Gram -). Si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram +. Par la suite on verse le colorant laissé agir pendant 30 secondes à une minute, puis laver à l'eau déminéralisée. Séchage de la lame sur une platine chauffante à 40 °C pendant 10 à 15 minutes. Coloration en rose des bactéries préalablement décolorée (Gram -). L'observation sous microscope se fait après l'ajout d'une goutte d'huile à immersion, puis observation grossissement G x100).

L'orientation vers la famille des *Entérobactériacae* se base sur plusieurs caractères : l'aspect morphologique des colonies bactériennes, la morphologie des bactéries après coloration, leurs caractéristiques de croissance et leur pigmentation. Néanmoins, l'identification précise des espèces bactériennes font appel à des galeries d'identification biochimique telle que la galerie API20.

3.1.2. Identification biochimique (Galerie API 20)

La galerie API 20E est un système standardisé, constitué de 20 micro-tubes prêts à l'emploi permettant de réaliser 23 tests biochimiques qui mettent en évidence les métabolismes bactériens. Elles sont utilisées en diagnostic in vitro pour la classification, la détermination et l'identification bactérienne des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif.

***Technique de la galerie API 20E :**

- On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide et on place la galerie dans la boîte d'incubation.
- A partir d'une culture fraîche sur milieu gélosé une suspension bactérienne dense est préparée en dissociant 4-5 colonies dans 5 ml d'eau physiologique stérile.
- On remplit les tubes et cupules des tests CIT, VIP et GEL avec la suspension bactérienne et on remplit uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.

- On réalise une anaérobiose dans les tests ADH, LDC, ODC, H2S, URE en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- On referme la boîte d'incubation qu'on incube à 37°C pendant 24H.
- Après incubation, on note sur la fiche de résultat, toutes les réactions spontanées.
- La révélation des trois TDA, VP et indole est faite par l'ajout des réactifs nécessaires (TDA, VP1, VP2 et KOVACS).
- L'identification est réalisée à l'aide d'un code obtenu après la lecture de la galerie

*Lecture de la galerie :

La lecture de la galerie est réalisée après l'incubation à 37 °C pendant 24 heure, les tests sont regroupés par triplet de gauche à droite, les trois valeurs obtenues sont additionnées pour obtenir le code du triplet, on obtient un code à 7 chiffres qui devrait correspondre aux références de la base de données, ce qui permet d'identifier la bactérie.

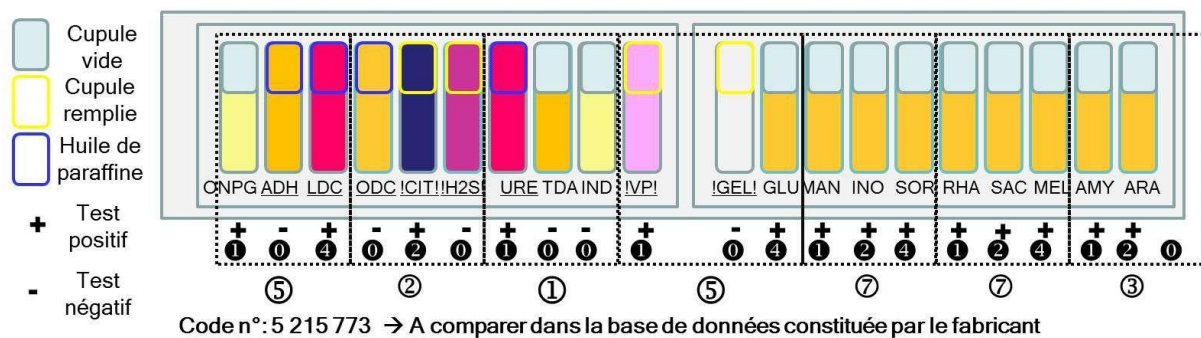


Figure 4 : Représentation schématique de la galerie API20E

3.2. Identification moléculaire

3.2.1. Identification avec la méthode MALDI-TOF-SM

L'identification des souches isolées peut se faire avec la méthode de Matrix Assisted Laser Desorption And Ionisation –Time Of Flight- Spectrophotometry Of Masse (MALDI-TOF-SM). Les souches sont déposées sur les cibles puis Co-cristallisées à l'aide de 0,5 ul de matrice constituées d'une solution saturée d'acide alpha-cyano-4-hydroxyciannamique contenant 50% d'acétonitrile et 2,5% d'acide trifluoroacétique. Une procédure d'extraction des protéines bactériennes est réalisée. Elle consiste à dissocier une colonie dans 20 ul d'acide formique à 25%. Par la suite 1 µl de la suspension est alors déposé dans un puits ; Après séchage, 1µl de matrice est additionné. Les dépôts sont effectués sur des plaques comprenant 44 puits dont deux sont réservés au dépôt de la souche d'*E. Coli* de référence. Après une

saisie du plan de plaque à l'aide du logiciel SIR WEB MALDI TOF, les souches sont analysées à l'aide du SM AXIMA assurance. Après 500 tirs laser ; les ions chargés positivement sont extraits puis accélérés dans un champ électromagnétique (20Kv en mode linéaire). Le spectre génère est analysé sur un intervalle 2000-20000 masse/charge (m/z). Puis comparé à ceux présents dans la base des données spectrale Saramis version 2009 (**Dauwalder *et al.*, 2010**).

3.2.2. Identification moléculaire (PCR 16S ARN)

Les souches bactériennes sont identifiées par une technique d'amplification (PCR). Le mélange pour la PCR avaient un volume finale de 100 ul avec 0,1uM d'amorces (spécifique pour chaque souche) ; 200 uM de chaque de nucléotides, 2,5 U de Taqpolymerase dans 1 volume de tampon d'amplification (10 mM HCL-Tris PH8, 3, 50 Mm KCL, 1,5 mM Mgcl2). L'amplification du 16S ARN est réalisée dans le thermocycleur suivant un cycle correspondant à l'amorce utilisée. Les produit de PCR ont été séquencés puis analysés avec les données de Genbank pour déterminer le genre et l'espace bactérienne (**Djenadi *et al.*, 2018**).

4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La réalisation d'un antibiogramme est la méthode de référence pour l'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques. A partir d'une culture pure jeune, on prélève 2 à 3 colonies bien isolée et parfaitement identique à l'aide d'une anse de platine stérile. Par la suite on dissout les colonies dans 5 mL d'eau physiologique stérile dans le but d'avoir une suspension bactérienne d'une densité comparée à un étalon de 0,5 McFarland. Pour l'ensemencement on procède comme suit : trempez un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne préalablement préparée, déchargez en le pressant sur la paroi du tube. Par la suite, ensemencez en stries serrées la surface gélosée du Muller Hinton. Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Les antibiotiques utilisés sont : Céfotaxime (CTX, 30 ug) ; Ceftazidime (CAZ, 30 ug) ; Aztréonam (ATM, 30 ug) ; Ertapénème (ETP, 10 ug) ; Méropénème (MEM, 10 ug) et Imipénème (IMP, 10 ug). Incubation à l'étuve 37 °C pendant une nuit.

La lecture se fait par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition du disque d'antibiotique. L'interprétation en sensible (S), intermédiaire (I) et résistant (R) a été faite selon les recommandations du (**CFA-SFM, 2010**).

5- Méthodes de détection des carbapénèmases

La détection des porteurs sains est particulièrement importante pour prévenir le développement d'épidémies à EPC en milieu hospitalier. Devant l'ampleur de l'épidémie, le HCSP a émis des recommandations concernant les mesures de prévention de la diffusion des EPC. Ces mesures sont basées sur le dépistage précoce et l'isolement rapide des patients porteurs. Le dépistage par écouvillonnage rectal est recommandé pour les patients hospitalisés dans les services à haut risque et pour les patients à haut risque de colonisation par EPC.

Les méthodes de détection des EPC reposent sur deux groupes de méthodes, les méthodes phénotypiques et les méthodes génotypiques (biologie moléculaire).

5.1. Test phénotypique

Les méthodes phénotypiques sont basées sur l'évaluation de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques.

5.1.1. Test de Hodge modifié

Le test de Hodge modifié est très utilisé comme méthode phénotypique générale de détection de la production de carbapénèmases. Ce test est sensible pour la détection des carbapénèmases, mais ne fournit pas d'information sur le type de carbapénèmases mis en cause.

On avait programmé de réaliser ce test pour mettre en évidence la production d'une carbapénèmase pour les souches qui présentent un profil de résistance à l'imipénème, sans préjuger de la classe d'Ambler. Ce test permet la mise en évidence d'une synergie d'activité enzymatique entre souches productrices de carbapénèmases (souche à tester) et souches sauvages de référence sensible. Ce test consiste à ensemercer en culture confluyente à l'aide d'un écouvillon une souche *d'E. Coli* sauvage ATCC 25922 (sensible à l'imipénème) sur une gélose Mac Conkey. Ensuite, on dépose un disque d'imipénème chargé à 10 µg au centre de la boîte, puis on ensemece les souches à tester par stries à partir du disque d'imipénème jusqu'à la périphérie de la boîte. Par la suite, 10 µl de cloxacilline à raison de 75 mg/ml sont déposés sur le disque d'imipénème. Après une nuit d'incubation à 37 °C, la déformation du diamètre d'inhibition due à une activité enzymatique autour du ce qui indique la production d'une carbapénèmase qui hydrolyse l'imipénème par la souche testée (**Lee et al., 2010**). La figure ci-dessous montre le schéma général du teste Hodge modifié.

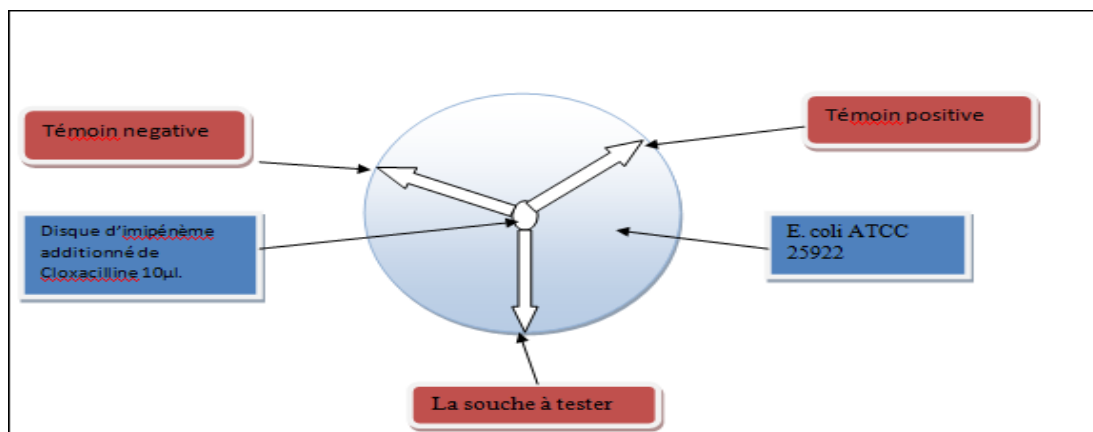


Figure 5 : Présentation schématique du Test de Hodge modifié (Lee *et al.*, 2010)

5.1.2. Le Carba NP test modifié

Ce test est utilisé pour confirmer la production de carbapénèmases. C'est un test colorimétrique (changement de couleur du rouge au jaune), qui repose sur la diminution du pH du milieu réactionnel lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénèmases. Ce test représente une excellente spécificité et sensibilité. Le test est élaboré comme suit :

Une boucle d'inoculation (10 µl) de la souche testée, est récupérée directement d'une boîte de gélose Muller Hinton (MH) à l'aide d'un ose calibré (10 µl). Par la suite elle est remise en suspension dans un tube Eppendorf, avec 200 µl de tampon de lyse CetylTrimethyl Ammonium Bromide (CTAB 0.02%) et vortexer pendant 1 à 2 min. Par la suite, Transférer 100µl de la suspension bactérienne dans 2 tubes Eppendorf "A" et "B". *Le tube A* (solution contenant l'indicateur de pH) est préparée en mélangeant 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol à 0,5% (poids / vol) dans 16,6 ml d'eau distillée dans un tube Eppendorf contenant 0,1 mM de ZnSO₄ et Ajuster le pH à 7.5 avec une solution de NaOH (1N). *Le tube B* contenant La Solution A additionnée d'imipénème à 6 mg/ml. Les deux tubes ont été vortexés puis incubés à 37 °C pendant un maximum de deux heures. La lecture visuelle est effectuée dans chaque tube Eppendorf. Ce test est réalisé en présence d'un témoin positif et négatif pour sa validation. L'interprétation des résultats fait Comme le montre le tableau 01 ci-dessous (Bakour *et al.*,2015).

Tableau 01 : Interprétation des résultats du Carba NP test modifié (Bakour *et al.*,2015).

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

5.1.3. Méthode d'inactivation du carbapénème (CIM)

La méthode d'inactivation du carbapénème (CIM) a été récemment décrite avec une bonne sensibilité et spécificité mais un temps de détection de 20 heures. Dans notre étude, nous voulions détecter rapidement les EPC par l'utilisation de la nouvelle version de cette technique, CIMplus. Qui permet la détection de carbapénèmases en huit heures et la caractérisation des classes de carbapénèmases, selon la classification d'Ambler, en 20 heures. Le test CIMplus représente une méthode simple, accessible et précise, faciles à lire et pouvant être utilisés sans équipement spécifique.

Pour la détection des carbapénèmases, une boucle d'inoculation (10 µl) de la souche testée, est récupérée directement d'une boîte de gélose Mueller Hinton (MH), et est ajoutée à 400 µl d'eau distillée. Par la suite, un disque contenant 10 µg méropénème est immergé dans la suspension et incubé pendant deux heures à 35 °C. Simultanément, pour la caractérisation des classes de carbapénèmases selon la classification d'Ambler, deux autres suspensions sont préparées, avec le même protocole, dans chaque suspension, un type d'inhibiteur des carbapénèmases est ajouté, soit l'acide éthylène aminé éarique (EDTA) à une concentration de 0,05 M ou 20 mg / ml d'acide phénylboronique (PBA). En même temps, une boîte de gélose Mueller-Hinton (MHA) est inoculée avec une souche de référence sensible d'*E. coli* (ATCC 29522). Cette inoculation est réalisée à l'aide d'un coton-tige stérile par la méthode de strie et incubé à 35 °C. Après 2 heures d'incubation, les 3 disques de méropénème présents dans les suspensions bactériennes sont retirés à l'aide d'une boucle d'inoculation, et placés sur les boîtes de gélose Mueller-Hinton (MHA) pré-incubées qui ont ensuite été ré-incubées à 35 °C.

La lecture se procède comme suit : pour le test de détection des carbapénèmases, la lecture visuelle est effectuée après six heures et pour le test de caractérisation des classes de carbapénèmases après 18 heures de placement des disques.

Au terme de l'incubation on procède à l'interprétation. Si la souche testée a produit des carbapénèmases, la souche sensible *E. coli* (ATCC 29522) accroîtrait le contact avec le disque de méropénème, à cause de l'inactivation de cet antibiotique par l'enzyme carbapénèmases. Par contre, si l'isolat testé ne produit pas de carbapénèmases, le méropénème serait hydrolysé incomplètement et conserve son activité. Ce qui permet d'obtenir une zone d'inhibition claire.

De même, dans le test de caractérisation, si l'activité carbapénèmases est inhibée par l'un des inhibiteurs, le méropénème conserve son activité et ainsi une zone d'inhibition est observée autour du disque.

En cas de détection positive de carbapénèmases, la caractérisation des classes de carbapénèmases est interprétée comme suit :

*si la souche de référence sensible d'*E. coli* (ATCC 29522) établit un contact avec le disque de méropénème incubé avec EDTA et sur le disque incubé avec PBA, l'isolat testé n'est ni une classe A ni une classe B et est donc est très susceptible d'être producteur de carbapénèmases de classe D.

*si la souche de référence sensible d'*E. coli* (ATCC 29522) pousse avec un zone d'inhibition autour du disque de méropénème incubé avec EDTA et établit un contact avec le disque de méropénème incubé avec PBA, l'isolat testé est un producteur de carbapénèmases de classe B.

*si le S-*E. coli* développe le contact au disque incubé avec EDTA avec une zone d'inhibition autour du disque incubé avec PBA, la souche teste est un producteur de carbapénèmases de classe A. (Caméléna *et al.*, 2018).

5.1.4. Détection des metallo- β -lactamases (M β L)

5.1.4.1. Le test de synergie double disque :

Ce teste devait être effectué comme l'a décrit Sachdeva et ces collaborateurs. Une culture d'une nuit des souches tests a été inoculée sur une gélose MH. Après séchage, deux disques distendus d'un centimètre sont déposés. Le premier disque est celui d'imipénème de 10 μ g et le second un disque vierge stérile. Un volume 10 μ l de solution EDTA a été appliqué au disque vierge (Une solution d'EDTA 0,5 M a été préparée en dissolvant 186,1 g d'EDTA disodique 2H₂O dans 1 000 ml d'eau distillée et en l'ajustant à pH 8,0 en utilisant du NaOH). Puis placé loin du contrôle. Un autre disque imipénème (Figure 06). Après incubation pendant la nuit, si la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème se développe vers le disque EDTA, par rapport à l'autre disque d'imipénème, placé de l'autre côté a été interprété comme un résultat positif et les souches tests sont considérées comme souches productrices de MBL (Sachdeva *et al.*, 2017)

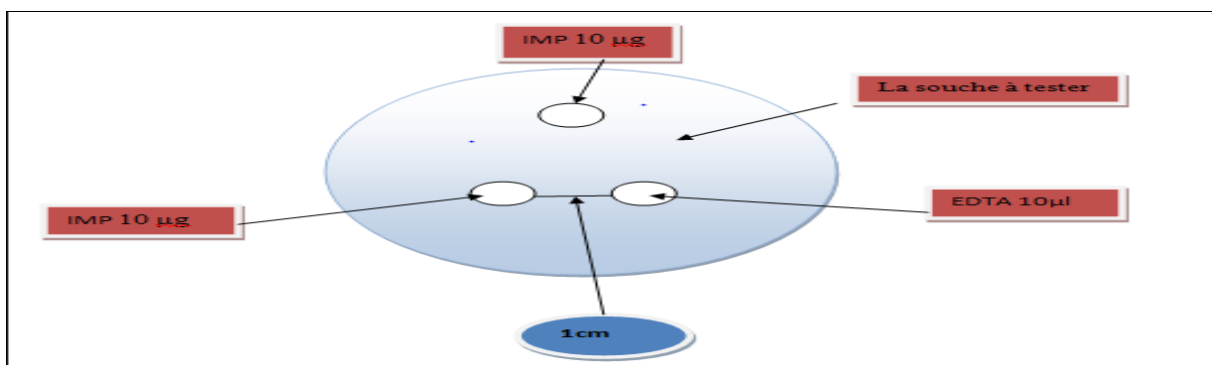


Figure 06 : Test de synergie double disque (Sachdeva *et al.*, 2017)

5.1.5. Méthode de diffusion sur disque combinée (test sur disque combiné)

Le test de disque combiné IMP-EDTA devait être effectué comme l'a décrit Yong et al. En premier lieu, les souches sont inoculées sur boîte de Pétri contenant la gélose Mueller Hinton. Puis deux disques d'imipenème de 10 µg sont déposés suffisamment distant sur la même boîte, l'un est constitué de disques de 10 µg d'imipenème (Oxoid, UK) additionné de 5 µl de solution EDTA (Une solution d'EDTA 0,5 M a été préparée en dissolvant 186,1 g d'EDTA disodique 2H₂O dans 1 000 ml d'eau distillée et en l'ajustant à pH 8,0 en utilisant du NaOH) et le second disque ne contient que le disque d'imipenème de 10 µg comme témoin. En outre, 5µl de la solution d'EDTA est ajouté sur un disque vierge (témoin négatif) (Figure 07). Après une nuit d'incubation, si l'augmentation de la zone d'inhibition avec le disque Imipenème et EDTA était ≥ 7 mm par rapport au disque Imipenème seul, le test est considéré comme positif et les souches tests donc sont considérées comme souches productrices de MBL (Yong *et al.*, 2002).

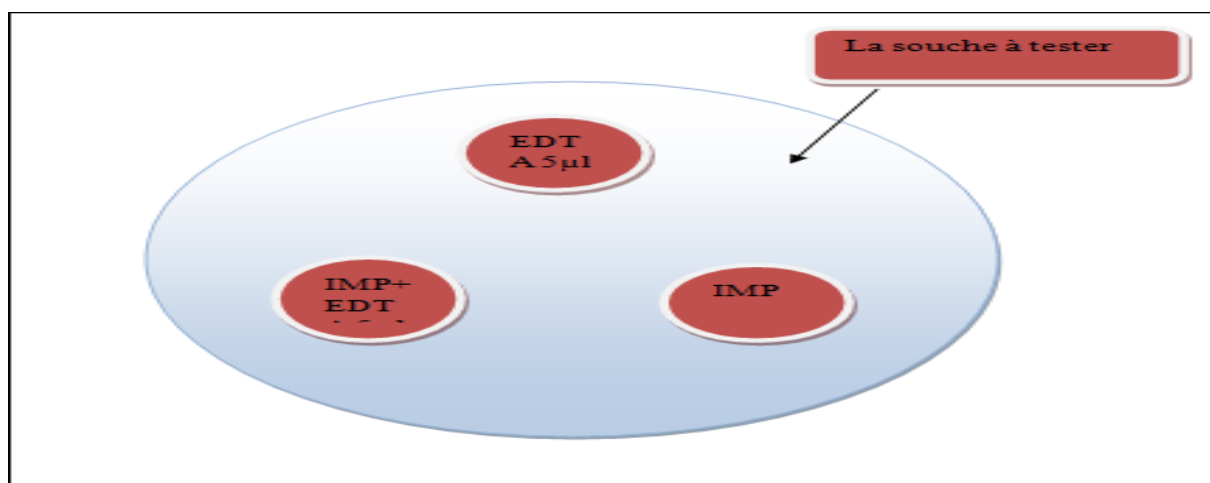


Figure 07 : Méthode des disques combinés (Yong *et al.*, 2002)

6. La méthode génotypique

La résistance aux β lactamases chez les Gram négatives est principalement codée par des gènes de résistance à savoir *bla*_{AMPc}, *bla*_{GES}, *bla*_{CTX}, *bla*_{KPC}, *bla*_{IMP}, *bla*_{OXA-48} et *bla*_{NDM}. Le criblage des gènes de résistance se fait suivant une amplification des amorces spécifiques à chaque gène de résistances.

Chapitre V : Epidémiologie et l'émergence des EPC dans le milieu clinique

La résistance aux antibiotiques est un problème majeur qui ne fait que s'accroître dans les unités de soins intensifs et réanimation. L'apparition et la propagation des EPC en milieu intra-ou-extrahospitalier constituent une menace directe pour la santé publique (**Kelly, Mathema, & Larson, 2017**). La persistance d'une colonisation avec des BMR chez les patients joue un rôle important dans la diffusion de ces bactéries, de plus la durée de colonisation est mal connue, en particulier après la sortie des patients de réanimation. (**Cattoen, 2015**).

Les infections causées par les EPC augmentent dans le monde, en particulier dans les services de réanimation, et ont été associées à des taux élevés de mortalité. Cela a été prouvé par une étude grecque qui a trouvé que le taux de mortalité est 1,79 (40,9%) fois plus élevé chez les patients porteurs d'EPC en réanimation (**Dautzenberg et al., 2015**). Cette augmentation est due essentiellement aux limites des options thérapeutiques contre ces souches. Cette situation s'explique en partie par le fait que les EPC résistent et l'hydrolyse les carbapénèmes. En effet les carbapénèmes sont les dernières molécules actives de l'arsenal thérapeutique contre les bactéries multirésistantes, en particulier celles produisant des BLSE. La limite des options thérapeutiques contre les EPC est expliquée par le fait que le plasmide porteur des gènes codant pour les carbapénémases, porte également des gènes supplémentaires qui codent pour d'autres résistances telles que les *Aminoglycosides* et les *Fluoroquinolones* (**Han et al., 2020; Tekeli et al., 2020**).

Les EPC sont donc considérées comme l'une des principaux pathogènes qui exigent le plus haut degré de surveillance, que ce soit les souches infectieuses ou les souches colonisant le tube digestif. La colonisation intestinale par EPC est le principal réservoir pour transporter ces souches aux unités hospitalières, en particulier l'unité de soins intensifs. Cela est dû à la densité bactérienne au niveau de l'intestin, la diffusion de ces souches au sein de cet écosystème rendent la flore intestinale plus tard une source d'infection extra-intestinale.

Il a également été noté qu'il existe plusieurs espèces d'entérobactéries avec les mêmes gènes de résistance qui codent pour les mêmes classes de carbapénémases, Cela a probablement été causé par les phénomènes de transport horizontale des gènes entre les mêmes ou de différentes espèces car ces gènes sont portés sur les plasmides et les éléments mobiles (**Mittal et al., 2016**).

L'augmentation alarmante de la propagation des EPC est préoccupante, étant donné que l'enzyme carbapénémase a été sélectionnée dans le monde entier. Certains sont souvent liés à des zones spécifiques et ont un taux de prévalence différent d'une région à l'autre. Une étude américaine réalisée au niveau d'une unité de soins intensifs pédiatriques, a estimé que la

prévalence de la colonisation intestinale reste faible 0,2% (Suwantararat *et al.*, 2016) avec un taux d'infection par EPC de 0,3 à 2,93 pour 100 000 personnes par ans (Livorsi *et al.*, 2018). En revanche une étude coréenne a donné un résultat de 0,3% en 2012 (Kim *et al.*, 2014), avec une hausse jusqu'à 2,8% en 2018 (Kang *et al.*, 2019). GHAITH et al ont confirmé dans une étude égyptienne que le taux de propagation dans leur pays est d'environ 24% (Ghaith *et al.*, 2019). Une autre étude iranienne a trouvé que le taux de colonisation du pays a atteint 37,9 (Solgi *et al.*, 2017). D'autre part une étude équatorienne à donner un résultat de 30,9% (Soria-Segarra *et al.*, 2020)

D'un point de vue épidémiologique, il est important de souligner qu'il y a une propagation préférentielle de chaque enzyme par régions géographiques. À noter que le bla_{KPC} a été identifié la première fois aux États-Unis, et est considéré comme enzyme dominante dans cette région (Ripabelli *et al.*, 2020), Tandis que dans le sous-continent indien l'enzyme NDM est le réservoir le plus important (Politi *et al.*, 2019), quant à l'OXA-48, elle est considérée comme étant la principale enzyme au Moyen-Orient, en Turquie et en Afrique du Nord (Mairi, *et al.*, 2018). La figure 08 montre la propagation de chaque ces enzymes par régions géographiques.

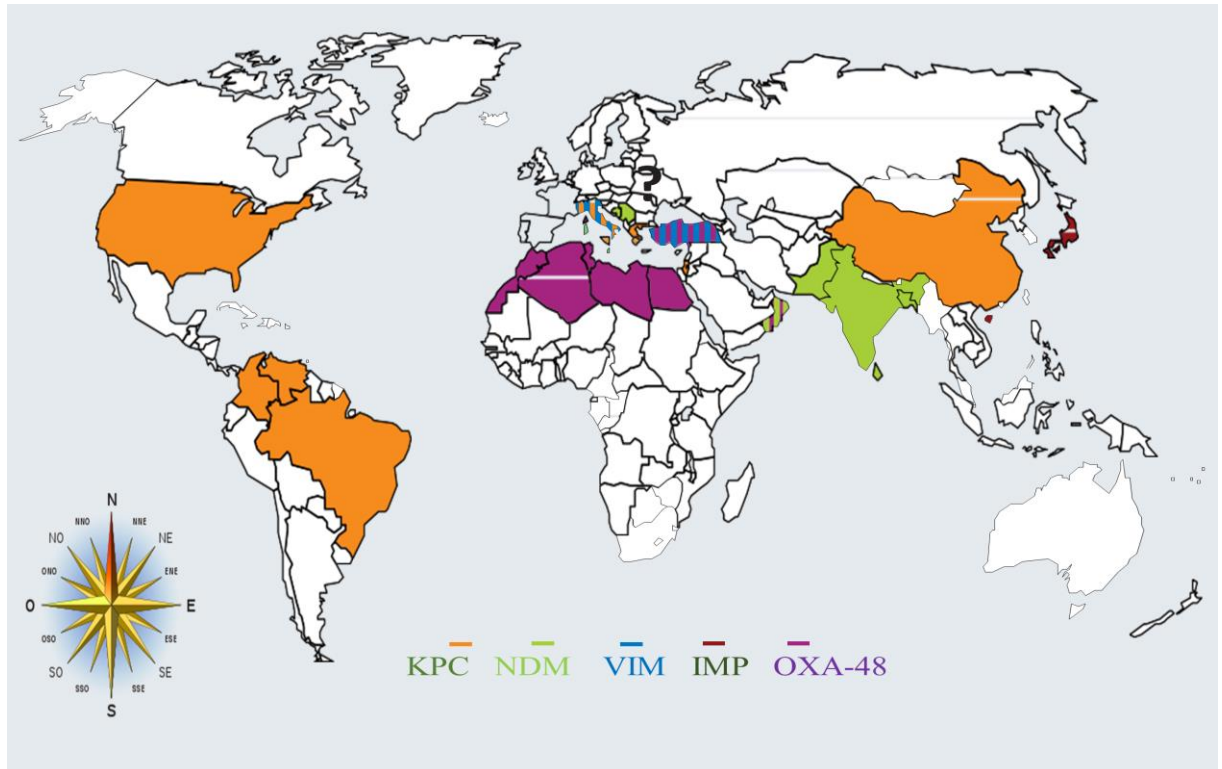


Figure 07 : Zones d'endémie pour les entérobactéries productrices de carbapénémases en fonction du type d'enzyme (Poirel, Dortet, & Nordmann, 2013).

Une souche de *Klebsiella pneumoniae* a été isolée en Turquie en 2001 et s'est avéré qu'elle est résistante à tous les β lactames, y compris les carbapénèmes. La résistance est médiée par l'expression du gène bla_{OXA-48} qui hydrolyse l'imipénème à un niveau élevé. Le gène était localisé sur un plasmide et non associé à un intégron contrairement à la plus part des gènes d'oxacilline. L'OXA-47 situé à l'intérieur d'un intégron de classe 1 et elle a un spectre d'activité étroit ; elle n'hydrolyse pas la céftazidime ni l'imipénème (Poirel *et al.*, 2004). Depuis, cette enzyme est considérée comme une source d'épidémie dans les hôpitaux du pays. L'enzyme s'est ensuite propagée dans le monde entier chez divers entérobactéries, *Citrobacter freundii* et *Escherichia coli* ont été signalées, principalement en Turquie mais aussi en Belgique, Liban, Inde, Argentine et récemment au Royaume Unis (Carrère *et al.*, 2010).

En Algérie, la première *E.coli* productrice d'OXA-48 a été détecté chez un patient hospitalisée à l'hôpital militaire régional de Constantine, ce patient vient d'une province frontalière avec la Tunisie, où cette carbapénémase est endémique (Agabou *et al.*, 2014).

Plusieurs études ont identifié une variété d'oxacillines chez *A. baumannii* résistante au carbapénèmes, le gène bla_{OXA-23} était signalés en premier lieu dans le monde entier, puis les gènes bla_{OXA-24}, bla_{OXA-72} et bla_{Oxa-58} ont été décrits plus tard. Une étude prospective de 18 mois visant à étudier la prévalence de bacilles à gram négatif multi-résistants et à caractériser les gènes codant pour les carbapénémases a été effectuée au niveau du service de réanimation de l'hôpital Ibn Rochd à Annaba. Plusieurs échantillons ont été réalisés à partir de : prélèvement distal protégé, pus, écouvillon rectal et urine, plus d'un tiers des isolats obtenu été MDR, le taux de résistance à l'imipénème était de 80% (n= 8/10), 43,33 % (n=13/30) des souches sont résistants au carbapénèmes (Toumi *et al.*, 2018).

Les récentes données de résistance aux antibiotiques en Algérie indiquent une situation inquiétante suite à l'émergence et la dissémination de nouveaux gènes de résistance, particulièrement au nord du pays. Les entérobactéries sont les souches les plus communément isolées chez les patients hospitalisés. *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sont souvent responsable d'infections pulmonaires et de bactériémie sévère notamment dans les services de soins intensif. Ces infections nosocomiales sont la cause d'une forte mortalité et morbidité partout dans le monde, le problème s'aggrave lorsque ces bactéries acquièrent une résistance aux antibiotiques (Tani & Arlet, 2014). Les carbapénèmes sont les molécules les plus actives des β -lactames avec 98% de sensibilité dans le monde. Cependant un nombre croissant d'EPC ont été identifié depuis le début des années 90. La répartition géographique de ces souches

diffère, les KPC de class A ont été plus fréquemment observé aux Etats-Unis et en Palestine tandis que les VIM et IMP de classe B, ont été généralement rencontré en Asie et dans le nord du bassin méditerranéen. En 2006 des souches productrices de VIM-4 de *Klebsiella pneumoniae* ont été identifiées lors d'une épidémie nosocomiale dans un hôpital tunisien, suggérant une diffusion en Afrique du nord-ouest.

En 2008 la première souche productrice de VIM a été découverte en Algérie. Une nouvelle métalocarbapénèmases VIM-19 produite par cinq souches d'entérobactéries isolé chez deux patients de l'unité de soins intensifs de l'hôpital militaire central d'Alger, Algérie (Robin *et al.*, 2010). Une autre étude effectuée la même année, suite au dépistage systématique bactéries multirésistantes d'un patient âgé de 30 ans transféré d'Alger, où il avait été hospitalisé dix jours, ils ont pu avoir deux isolats résistant aux carbapénèmes, un isolat d'*Escherichia coli* et un isolat de *Klebsiella pneumoniae*, ont exprimé VIM-19, le gène bla_{VIM-19} été localisé sur un plasmide de 160 Kb (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010).

Une étude menée au CHU d'Oran ayant pour but de caractériser le mécanisme de résistance aux carbapénèmes dans des isolats de *P. aeruginosa* provenant de différents échantillons cliniques. Onze isolats (5,39%) était résistants aux carbapénèmes, six (2,94%) abritait le gène bla_{VIM-4} hébergé sur un intégron de classe 1, avec un nouvel arrangement de cassettes de gènes (Zaidi *et al.*, 2019).

Quant aux NDM, la souche *A. baumannii* qui héberge ces enzymes, est de plus en plus observées dans le monde, notamment en Algérie (Djahmi *et al.*, 2014). Elle a été isolée chez un homme de 25 ans précédemment hospitalisé à l'USI de l'hôpital d'Oran. Il a été admis pour un traumatisme crânien sévère. Une culture à partir d'un cathéter sanguin et des prélèvements rectaux, faites lors de son admission nous a permis de dévoiler la présence d'une souche Ora-1 d'*A. baumannii* résistante aux carbapénèmes en produisant NDM-1 (Boulanger *et al.*, 2012). Une autre étude qui s'étend de 2008 jusqu'à 2012, des isolats d'*Acinetobacter* spp ont été récupérés dans trois hôpitaux différents situés dans le nord West de l'Algérie (Tlemcen, Oran et Sidi Bel Abbes) tous isolés de patients admis en : unité de soins intensifs, hématologie, chirurgie et neurochirurgie. Cette étude a représenté la première description d'*Acinetobacter* spp autochtones produisant des Métallo- β -lactamase bla_{NDM-1}, des oxacillines bla_{OXA-23} et bla_{OXA-24} dans l'ouest de l'Algérie (Mesli *et al.*, 2013). Le gène bla_{NDM-1} a récemment été détecté pour la première fois en Algérie chez *Acinetobacter nosocomialis* isolé à Ouargla au CHU Mohamed Boudiaf (Yagoubat *et al.*, 2017).

Une étude récente aussi faite au CHU de Annaba qui avait pour objectif de détecter *in vitro* l'activité synergique de la colistine associé avec l'imipénème, l'amikacine ou ciprofloxacine contre *Acinetobacter* et *Pseudomonas aeruginosa* résistantes au carbapénème isolé de divers services. La PCR a révélé la présence des gènes bla_{OXA23}, bla_{OXA24} et bla_{NDM-1} chez *A. baumannii* et bla_{VIM-2} chez *P.aeruginosa*. L'association de la colistine et de l'imipénème à montrer un effet synergique sur 57,14% (*A. baumannii*) et 46,15% (*P.aeruginosa*). Alors que la colistine et la ciprofloxacine ont montré une synergie de 14,29% et 15,38% respectivement (**Meliani et al., 2020**).

Tous les patients admis au service oncologie de l'hôpital Amizour (Bejaia) pour traitement du cancer colorectal ont été dépistés pour le portage fécal d'EPC, un patient a été trouvé vecteur pour *Klebsiellapneumoniae* productrice d'OXA-48. En effet les patient atteint d'un cancer sont plus susceptible de souffrir d'une infection due à l'utilisation fréquente d'antibiotique (**Touati et al., 2020**). Plusieurs études dans les régions Nordiques d'Algérie, mais reste très rare dans les régions du sud, une enquête épidémiologique a été menée dans la zone d'Ouargla, trois souches d'*A. Baumannii* produisant de l'OXA-23 a été détecté (**Yagoubat et al., 2017**).

L'unité de soins intensifs est un réservoir important de bactéries à Gram négatives multi-résistances, parmi ces bactéries on trouve les EPC. Cette unité précisément considère un facteur de risque pour la diffusion de ces souches hautement résistante. En effet dans une étude indienne la colonisation par les EPC a été observée chez 6,6% (8/122) des témoins, le portage fécal d'EPC était significativement plus élevé au bout du 4^{ème} jour (22%) par rapport au premier jour (11%). La colonisation intestinale par ces souches peut être une source d'infection endogène et de transfert horizontal de ces gènes à l'avenir (**Mittal et al., 2016**).

Chez les patients en soins intensif, la résistance à plusieurs antibiotiques est liée aux infections nosocomiales. Plus le temps d'hospitalisation augmente dans USI (supérieur à 7 jours) plus le risque d'être infecté par un agent pathogène augmente d'environ d'eux a trois fois (**Fatima et al., 2019**).

Cela a été confirmé par une autre étude comparant le taux de portage d'EPC chez un groupe de patients hospitalisés et un groupe d'adulte en bonne santé, vivant dans la même ville. En effet les EPC ont été détecté uniquement chez les patients hospitalisés ou ayant été exposé aux antibiotiques durant les deux dernier mois. 67% (6/9) des porteurs d'EPC ont été déjà admis à USI (**Ohno et al., 2020**).

En plus du séjour dans les unités de soins intensifs, la consommation de certains types d'antibiotiques représente l'un des facteurs de risque les plus importants pour l'acquisition d'EPC. Cela est dû initialement au fait que le plasmide portant les gènes codant pour le carbapénèmase, porte également d'autres gènes supplémentaires qui confèrent aux bactéries une résistance contre des types spécifiques d'antibiotique et l'utilisation excessive de ce dernier conduit à la sélection des bactéries productrice de carbapénèmases. Cela a été confirmé par plusieurs études récentes comme celle de Solgi et ses collaborateurs . Ils ont affirmé que l'exposition aux céphalosporines de troisième génération est le principal facteur de risque (Solgi *et al.*, 2017). Alors que Mittal et ses collaborateurs ont affirmé que le traitement par *Aminoglycoside* est considéré comme un risque pour l'acquisition et la propagation des EPC(Mittal *et al.*, 2016).

D'autres paramètres peuvent favoriser l'acquisition et la propagation de ces souches, Les infections associées aux dispositifs médicaux invasifs représentent un véritable problème de santé publique dans les services de réanimation. La ventilation mécanique, la durée de séjour prolongé, l'utilisation intensive d'antibiotiques à large spectre, mais aussi les facteurs individuels peuvent être impliquée en tant que maladie sous-jacente grave, comme le diabète, l'immunosuppression et la fréquence des techniques invasifs(Hammami *et al.*, 2017). Le taux de bactériémies liées au séjour hospitalier était de 5,6 pour 100 patients surveillés dans une étude réalisé au CHU d'Oran. La survenue de bactériémie était significativement liée à l'exposition à la ventilation mécanique(Benaissa, 2019).

Une étude effectuée dans un hôpital en Corée a montré que la vieillesse et l'exposition aux antibiotiques glycopeptidique présentent des facteurs de risques d'acquisition d'ERC. Il s'est avéré que les hommes sont plus susceptibles, présente aussi un facteur de risque(Kang *et al.*, 2019). A l'opposé une étude espagnole suggèrent que les facteurs de risque tels que les maladies chroniques, ou la prise fréquente d'antibiotique n'a aucun impact sur le portage rectal des bactéries productrices de BLSE et que le personnel soignant ne représentent aucun risque de portage rectal de *enterobacteriaceae* MDR, mais des études supplémentaire sont nécessaire pour confirmer cette trouvaille(Fernández-Verdugo *et al.*, 2020).

L'isolement de souches d'entérobactéries produisant une carbapénèmase est croissant dans le monde entier. Le portage fécal des EPC est le réservoir principal pour leur diffusion et leur forte prévalence. La détection précoce des EPC est l'une des stratégies les plus importantes pour contrôler la propagation de ces souches ceci repose sur l'identification des patients à risque dès leur admission, et la mise en place de mesure afin de limiter au maximum la propagation de ces germes. Leur détection peut parfois se révéler difficile mais

de nouveaux moyens font peu à peu leur apparition afin de faciliter leur mise en évidence au laboratoire de microbiologie. Plusieurs pays ont adopté des instructions pour mener des dépistages fiables, en particulier pour les patients à haut risque (Yagoubat *et al.*, 2017). Devant cette situation alarmante, de taux élevés de BMR isolée ces dernières années dans nos hôpitaux, un programme de prévention et de contrôle des infections à Bactéries Multirésistantes en milieu de soin a été mis en place : « le comité d'experts chargé de la prévention et du contrôle des infections IAS ». Ce comité avait pour mission d'élaborer un Programme National de Prévention et de Contrôle de l'infection, les référentiel publié s'est concentré que sur l'hygiène ce qui n'est pas suffisant pour limiter la propagation des germes, et à promit un nouveaux référentiel qui comprend les isolements qui sera publié en 2018. Malheureusement ceci est très rarement appliqué ou on peut dire n'a jamais été appliqué dans nos hôpitaux, et c'est là où réside le problème. L'absence de méthodes de routine pour la détection précoce de ces souches doit être mis en place, pour mettre fin, ou limiter cette propagation.

Conclusion

L'émergence continue des souches résistantes aux antibiotiques, en particulier aux carbapénèmes, désormais un problème majeur de santé publique. Cette propagation est principalement due à la surconsommation, le mésusage des antibiotiques et l'admission dans une unité de soins intensifs. .

Au terme de cette étude théorique pour évaluer le portage fécale *des Enterobacteriaceae* produisant des carbapénèmases dans l'unité de réanimation. Les données de la littérature ont mis en évidence le rôle important du tractus intestinal en tant que réservoir principal des EPC et la forte prévalence du portage fécal des *Enterobacteriaceae* résistantes aux carbapénèmes augmente le risque de transmission patient à patient surtout dans le service de réanimation.

En perspectives, notre étude reste préliminaire et le thème reste ouvert pour de prochaines études. Il serait intéressant de compléter cette étude en :

- ❖ Mettre en commun les facteurs de risque dans l'acquisition de souches résistantes aux carbapénèmases
- ❖ L'utilisation de la biologie moléculaire pour identifier des gènes codant pour la carbapénèmases et recherche de lien de clonalité entre plusieurs souches résistantes aux carbapénèmes.
- ❖ enfin, l'idéale serait de faire une étude à l'échelle nationale pour évaluer le portage fécal des EPC. C'est la meilleure stratégie pour contrôler la propagation de ces souches

Références Bibliographiques

❖ Références Bibliographiques :

À

- 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.
- Ahoyo, a., baba-moussa, l., anago, a., avogbe, p., missihoun, t., loko, f., dramane, k. (2007). Incidence d'infections liées a escherichia coli producteur de bêta lactamase a spectre elargi au centre hospitalier départemental du zou et collines au bénin. *Médecine et maladies infectieuses*, 37(11), 746-752.
- Alekshun, m. N.,levy, s. B. (2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128(6), 1037-1050.
- Ambler, r. P. (1980). The structure of β -lactamases. *Philosophical transactions of the royal society of london. B, biological sciences*, 289(1036), 321-331.
- Amméd benaïssa, d. A. M. (2019). Profil épidémiologique des infections associées aux dispositifs médicaux invasifs dans un service de réanimation algérien, 6, 879-886.
- Avril, j.-l., dabernat, h., denis, f., & monteil, h. (2000). *Bactériologie clinique: ellipses*, édition marketing sa, 608p.

B

- Babakhani, s., oloomi, m. (2018). Transposons: the agents of antibiotic resistance in bacteria. *Journal of basic microbiology*, 58(11), 905-917.
- Bakour, s., garcia, v., loucif, l., brunel, j.-m., gharout-sait, a., touati, a., rolain, j.-m. (2015). Rapid identification of carbapenemase-producing enterobacteriaceae, pseudomonas aeruginosa and acinetobacter baumannii using a modified carba np test. *New microbes and new infections*, 7, 89-93.
- Balière, c. (2016). *Les escherichia coli potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral: cas des stec et des epec*. Thèse de doctorat :microbiologie,école doctorale des sciences de la mer : université de bretagne occidentale, 236p.
- Baran, i., aksu, n. (2016). Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant enterobacteriaceae in a tertiary-level reference hospital in turkey. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 15(1), 20.

- Belbel, z. (2013). 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 :university badji mokhtar annaba, 126p.
- Benammar, s., benmehidi, m., courcol, r., bouziane, f., boukhalfa, s., makhoulfi, m., messala, a. (2017). Résistance des entérobactéries aux carbapénèmes dans notre établissement (2014–2016). *Médecine et maladies infectieuses*, 47(4), s29.
- Bergmans, d., bonten, m., gaillard, c., van tiel, f., van der geest, s., de leeuw, p., stobberingh, e. (1997). Indications for antibiotic use in icu patients: a one-year prospective surveillance. *The journal of antimicrobial chemotherapy*, 39(4), 527-535.
- Benjira, l. (2016). *Etude de la prescription d'antibiotique chez l'enfant*. Pour l'obtention du diplôme de spécialité en médecine option : pédiatrie, université sidi mohammed ben abdellah. Retrieved from http://scolarite.fmp-usmba.ac.ma/cdim/mediatheque/memoires/e_memoires/23-16.pdf
- Bibbal, d. (2008). *Impact des bêta-lactamines sur l'émergence d'entérobactéries résistantes dans la flore digestive chez le porc: caractérisation et stratégie de prévention*. Université de toulouse, université toulouse iii-paul sabatier, 158p.
- Boisson, m., mimoz, o. (2018). Les nouveaux antibiotiques: qu'apportent-ils aux cliniciens? *Le praticien en anesthésie réanimation*, 22(5), 289-295.
- Boulanger, a., naas, t., fortuneau, n., figueiredo, s., & nordmann, p. (2012). Ndm-1-producing acinetobacter baumannii from algeria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 56(4), 2214-2215.
- Boulant, e., davin-regli, a., pagès, j.-m., bolla, j.-m. (2020). Les pompes d'efflux, mécanisme de résistance bactérien. *Revue francophone des laboratoires*, 2020(519), 38-49.
- Brandt, c., braun, s. D., stein, c., slickers, p., ehricht, r., pletz, m. W., makarewicz, o. (2017). In silico serine β -lactamases analysis reveals a huge potential resistome in environmental and pathogenic species. *Scientific reports*, 7, 43232.
- Bush, k. (2010). Alarming β -lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant enterobacteriaceae. *Current opinion in microbiology*, 13(5), 558-564.
- Bush, k., bradford, p. A. (2016). B-lactams and β -lactamase inhibitors: an overview. *Cold spring harbor perspectives in medicine*, 6(8), a025247.
- Bush, k., bradford, p. A. (2019). Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors. *Nature reviews microbiology*, 17(5), 295.
- Buxeraud, j., faure, s. (2016). Les bêtalactamines. *Actualités pharmaceutiques*, 55(558), 1-5.

- Caméléna, F., Cointe, A., Mathy, V., Hobson, C., Doit, C., Bercot, B., Monjault, A. (2018). Within-a-day detection and rapid characterization of carbapenemase by use of a new carbapenem inactivation method-based test, CIMplus. *Journal of clinical microbiology*, 56(9), 1-7.
- Carle, s. (2009). La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important!, *pharmactuel*, 42(2), 6-21.
- Carrër, a., poirel, l., yilmaz, m., akan, ö. A., feriha, c., cuzon, g., nordmann, p. (2010). Spread of oxa-48-encoding plasmid in turkey and beyond. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(3), 1369-1373.
- Carrer, a., nordmann, p. (2011). Ctx-m-15-producing klebsiella pneumoniae: a change in the epidemiology of esbl. *Pathologie-biologie*, 59(6), e133.
- Cattoen, c. (2015). Persistance du portage de bactéries multirésistantes après la réanimation. *Réanimation*, 24(3), 249-255.
- Cavallin, l. (2019). *La prescription de carbapénèmes : enjeu majeur dans la Lutte contre l'antibiorésistance*. Pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université toulouse iii paul sabatier (105)
- Cerdeira, l. T., cunha, m. P., francisco, g. R., bueno, m. F. C., araujo, b. F., ribas, r. M., lincopan, n. (2017). Incx3 plasmid harboring a non-tn4401 genetic element (ntekpc) in a hospital-associated clone of kpc-2-producing klebsiella pneumoniae st340/cg258. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 89(2), 164-167.
- Champ, n., prévention, d. L. M. T., réanimation, e., de risque, q. F., rechercher, e. R., sont, q., les implications, p. L. P. (2001). Recommandations des experts de la société de réanimation de langue française.
- Charles, p.-e., dargent, a., andreu, p. (2017). Nouvelles molécules anti-infectieuses. Quelle place en médecine intensive réanimation pour le tédizolide, la ceftaroline et le ceftobiprole? *Médecine intensive réanimation*, 26(3), 207-217.
- Chattaway, m. A., schaefer, u., tewolde, r., dallman, t. J., jenkins, c. (2017). Identification of escherichia coli and shigella species from whole-genome sequences. *Journal of clinical microbiology*, 55(2), 616-623.
- Cohen, r., bingen, e., gendrel, d., patey, o., doyon, f., dejour-salamanca, v. V. I. D., .pellanne, i. (2004). Traitement antibiotique des gastro-entérites a shigella sonnei. *La presse médicale*, 33(21), 1538-1545.

Coker, c., poore, c. A., li, x., mobley, h. L. (2000). Pathogenesis of proteus mirabilis urinary tract infection. *Microbes and infection*, 2(12), 1497-1505.

Coustes, T. (2016). Loi d'avenir agricole, réglementation du médicament vétérinaire et lutte contre l'antibiorésistance. 106p

Cytryn, e. (2013). The soil resistome: the anthropogenic, the native, and the unknown. *Soil biology and biochemistry*, 63, 18-23.

D

Dali, a. A. (2015). *Infections nosocomiales a bactéries multirésistantes (bmr) en réanimation adulte a l'ehuo, profil épidémiologique, facteurs de risques et facteurs pronostiques*. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat, université d'oran1 ahmed benbella, 214p.

Dautzenberg, m. J., wekesa, a. N., gniadkowski, m., antoniadou, a., giamarellou, h., petrikkos, g. L., derde, l. P. (2015). The association between colonization with carbapenemase-producing enterobacteriaceae and overall icu mortality: an observational cohort study. *Critical care medicine*, 43(6), 1170.

Delannoy, m., agrinier, n., charmillon, a., dellamonica, j., degand, n., leone, m., novy, e. (2019). Application de programmes de bon usage des antibiotiques dans les services de réanimation français en 2018: enquête nationale multicentrique. *Médecine et maladies infectieuses*, 49(4), s62.

Denis, f., cattoir, v., martin, c., ploy, m.-c., poyart, c. (2016). *Bactériologie médicale: techniques usuelles*: elsevier masson, 573p.

Djahmi, n., dunyach-remy, c., pantel, a., dekhil, m., sotto, a., lavigne, j.-p. (2014). Epidemiology of carbapenemase-producing enterobacteriaceae and acinetobacter baumannii in mediterranean countries. *Biomed research international*, 1-11.

Djenadi, k. (2019). Isolement, purification, identification et caractérisation phénotypique et génotypique des bacilles a gram négatif résistant a l'imipenème isolés de divers prélèvements naturels, thèse de doctorat : Microbiologie Appliquée, université a.mira-bejaia, 127p.

Drancourt, m., bollet, c., carta, a., rousselier, p. (2001). Phylogenetic analyses of klebsiella species delineate klebsiella and raoultella gen. Nov., with description of raoultella ornithinolytica comb. Nov., raoultella terrigena comb. Nov. And raoultella planticola comb. Nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(3), 925-932.

Drzewiecka, d. (2016). Significance and roles of proteus spp. Bacteria in natural environments. *Microbial ecology*, 72(4), 741-758.

Durrmeyer, x., cohen, r. (2010). Utilisation des carbapénèmes en pédiatrie. *Archives de pédiatrie*, 17, s163-s170.

£

El kettani, a., zerouali, k., diawara, i., ouhadous, m., harrar, n., belabbes, h., elmdaghri, n. (2017). Les bactériémies associées aux soins en réanimation au centre hospitalier universitaire ibn rochd, casablanca, maroc. *Santé publique*, 29(2), 209-213.

El-shorbagi, a. N., chaudhary, s. (2019). Monobactams: a unique natural scaffold of four-membered ring skeleton, recent development to clinically overcome infections by multidrug-resistant microbes. *Letters in drug design & discovery*, 16(12), 1305-1320.

El salabi, a., walsh, t. R., chouchani, c. (2013). Extended spectrum β -lactamases, carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in gram-negative bacteria. *Critical reviews in microbiology*, 39(2), 113-122.

F

Fatima, a., kamran, r., rashid, h., shafique, m. (2019). Molecular characterisation of carbapenem-resistant enterobacteriaceae from intensive care units. *Journal of the college of physicians and surgeons pakistan*, 29(9), 878-881.

Fatoumata, t. (2004). *Résistance aux bêta-lactamines de souches bactérienne isolées d'hémoculture au chu a. Le dantec*. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie. P: 29-40.

Fauchère, j.-l., avril, j.-l. (2002). *Bactériologie générale et médicale*, 365p.

Fernández-verdugo, a., forcelledo, l., rodríguez-lozano, j., rodríguez-lucas, c., barreiro-hurlé, l., canut, a., boga, j. (2020). Prospective multicentre study of rectal carriage of multidrug-resistant enterobacteriaceae among health-care workers in spain. *Clinical microbiology and infection*, 26(5), 649. E641-649. E644.

G

Gauzit, r., gutmann, l., brun-buisson, c., jarlier, v., fantin, b. (2010). Recommandations de bon usage des carbapénèmes. *Antibiotiques*, 12(4), 183-189.

Gérard, p. (2011). Le microbiote intestinal: composition et fonctions. *Phytothérapie*, 9(2), 72-75.

- Ghaith, d. M., mohamed, z. K., farahat, m. G., shahin, w. A., & mohamed, h. O. (2019). Colonization of intestinal microbiota with carbapenemase-producing enterobacteriaceae in paediatric intensive care units in cairo, egypt. *Arab journal of gastroenterology*, 20(1), 19-22.
- Godchaux, m. (2016). *Les hypersensibilités aux beta-lactamines*. . Pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de lille 2 retrieved from <https://pepite-depot.univ-lille2.fr/nuxeo/site/esupversions/d339eb38-5a81-4e11-9d96-e0148084f603> (147)
- Grall, n., andremont, a., armand-lefèvre, l. (2011). Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse? *Journal des anti-infectieux*, 13(2), 87-102.
- ff
- Haidar, g., clancy, c. J., chen, l., samanta, p., shields, r. K., kreiswirth, b. N., nguyen, m. H. (2017). Identifying spectra of activity and therapeutic niches for ceftazidime-avibactam and imipenem-relebactam against carbapenem-resistant enterobacteriaceae. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(9).
- Hajar, m. H. (2017). La résistance bactérienne: mécanismes et méthodes de detection au laboratoire, thèse de doctorat : medecine, Faculté de Médecine et de Pharmacie Fès, 149p.
- Hale, t. L., & keusch, g. T. (1996). *Shigella medical microbiology. 4th edition*: university of texas medical branch at galveston.
- Hammami, a.(1991). Les inhibiteurs de betalactamases place dans le traitement des infections orl de l'enfant. *Médecine du Maghreb*, (30), 21-24.
- Hammami, s., dahdeh, c., mamlouk, k., ferjeni, s., maamar, e., hamzaoui, z., Slim, a. (2017). Rectal carriage of extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase producing gram-negative bacilli in intensive care units in tunisia. *Microbial drug resistance*, 23(6), 695-702.
- Han, r., shi, q., wu, s., yin, d., peng, m., dong, d., hu, f. (2020). Dissemination of carbapenemases (kpc, ndm, oxa-48, imp, and vim) among carbapenem-resistant enterobacteriaceae isolated from adult and children patients in china. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10.
- Hermann, t. (2005). Drugs targeting the ribosome. *Current opinion in structural biology*, 15(3), 355-366.
- Holman, a.-m. Etude épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénémase a la réunion de 2010 a 2015. *Médecine humaine et pathologie*.

Hooper, d. C. (2001). Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerging infectious diseases*, 7(2), 337.

I

Ito, h., arakawa, y., ohsuka, s., wacharotayankun, r., kato, n., ohta, m. (1995). Plasmid-mediated dissemination of the metallo-beta-lactamase gene bla_{IMP} among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39(4), 824-829.

J

Joly, b., reynaud, a. (2004). Entérobactéries: systématique et méthodes de diagnostic. *Feuillets de biologie*, 69-69.

K

Kang, j. S., yi, j., ko, m. K., lee, s. O., lee, j. E., kim, k.-h. (2019). Prevalence and risk factors of carbapenem-resistant enterobacteriaceae acquisition in an emergency intensive care unit in a tertiary hospital in korea: a case-control study. *Journal of korean medical science*, 34(18).

Kattan, j., villegas, m., quinn, j. (2008). New developments in carbapenems. *Clinical microbiology and infection*, 14(12), 1102-1111.

Kelly, a. M., mathema, b., larson, e. L. (2017). Carbapenem-resistant enterobacteriaceae in the community: a scoping review. *International journal of antimicrobial agents*, 50(2), 127-134.

Khayar, y. (2011). *Comportement des enterobacteries isolees des urines vis-a-vis de l'amoxicilline-acide clavulanique l'imipeneme et l'ertapeneme*.

Kim, j., lee, j. Y., kim, s. I., song, w., kim, j.-s., jung, s., park, y.-j. (2014). Rates of fecal transmission of extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenem-resistant enterobacteriaceae among patients in intensive care units in korea. *Annals of laboratory medicine*, 34(1), 20-25.

Klein, a. (2012). Jean-paul vuillemin (1861-1932): l'inventeur nancéien du concept d'antibiotique, 8p.

Kopotsa, k., osei sekyere, j., mbelle, n. M. (2019). Plasmid evolution in carbapenemase-producing enterobacteriaceae: a review. *Annals of the new york academy of sciences*, 1457(1), 61-91.

- Korsak, n., clinquart, a., daube, g. (2004). Salmonella spp. Dans les denrées alimentaires d'origine animale: un réel problème de santé publique. *Ann. Méd. Vét*, 148, 174-193.
- Kumar, a., chakraborti, s., joshi, p., chakrabarti, p., chakraborty, r. (2011). A multiple antibiotic and serum resistant oligotrophic strain, klebsiella pneumoniae mb45 having novel dfra30, is sensitive to zno qds. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 10(1), 1-11.


I

- Larpent, j.-p. (2000). *Introduction a la nouvelle classification bactérienne: les principaux groupes bactériens*: tec & doc, 280p.
- Lavigne, j. (2007). Effet des antibiotiques, mécanismes de résistance. 1er cycle-pcem 2-mb7 : bactériologie. France : faculté de médecine montpellier-nîmes, 180p.
- Lecour, a. (2017). *Détection des carbapénemases chez les entérobactéries: revue de la littérature et evaluation des techniques phénotypiques*. thèse de doctorat : Biologie Médicale. toulouse:université toulouse iii paul sabatier, 141p.
- Lee, k., kim, c. K., yong, d., jeong, s. H., yum, j. H., seo, y. H., chong, y. (2010). Improved performance of the modified hodge test with macconkey agar for screening carbapenemase-producing gram-negative bacilli. *Journal of microbiological methods*, 83(2), 149-152.
- Lemaitre, n., simonet, m. (2020). Yersinia pestis. *Actualites permanentes en microbiologie clinique*, 19(01), 8-8.
- Lepelletier, d., batard, e., berthelot, p., zahar, j.-r., lucet, j.-c., fournier, s., Grandbastien, b. (2015). Maîtrise de la diffusion des entérobactéries productrices de carbapénémases: épidémiologie, stratégies de prévention et enjeux. *La revue de médecine interne*, 36(7), 474-479.
- Leroy, o., boussekey, n., georges, h. (2006). Indication, intérêts et limites de la désescalade antibiotique en réanimation. *Réanimation*, 15(3), 159-167.
- Licker, m. Cours de microbiologie specială vol. I bacteriologie, 131p.
- Lie, a. S. (2002). Sensibilité et evolution de la résistance de pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques a l'hôpital du point g. *La faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie*. thèse de doctorat : Pharmacie. Bamako : Université De Bamako, 95p.
- Livermore, d. M. (2012). Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *The korean journal of internal medicine*, 27(2), 128.

- Livorsi, d. J., chorazy, m. L., schweizer, m. L., balkenende, e. C., blevins, a. E., nair, r., perencevich, e. N. (2018). A systematic review of the epidemiology of carbapenem-resistant enterobacteriaceae in the united states. *Antimicrobial resistance & infection control*, 7(1), 55.
- Lobanovska, m., pilla, g. (2017). Focus: drug development: penicillin's discovery and antibiotic resistance: lessons for the future? *The yale journal of biology and medicine*, 90(1), 135.
- Logan, l. K., weinstein, r. A. (2017). The epidemiology of carbapenem-resistant enterobacteriaceae: the impact and evolution of a global menace. *The journal of infectious diseases*, 215(suppl_1), s28-s36.



- Mainardi, j. (2015). Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques/session interactive autour de l'antibiogramme, 112p.
- Mainil, j. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'escherichia coli: i) les adhésines et facteurs de colonisation. *Ann med vet*, 147, 105-126.
- Mairi, a., pantel, a., sotto, a., lavigne, j.-p., touati, a. (2018). Oxa-48-like carbapenemases producing enterobacteriaceae in different niches. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 37(4), 587-604.
- Mallaret, M. (2002). Quelle architecture concourt à la prévention des infections nosocomiales en réanimation? *Réanimation*, 11(4), 260-265.
- Marchenay, p., blasco, g., navellou, j.-c., leroy, j., cholley, p., talon, d., gbaguidi-haore, h. (2015). Acquisition of carbapenem-resistant gram-negative bacilli in intensive care unit: predictors and molecular epidemiology. *Médecine et maladies infectieuses*, 45(1-2), 34-40.
- Martínez, j., martínez, l., rosenblueth, m., silva, j., martínez-romero, e. (2004). How are gene sequences analyses modifying bacterial taxonomy? The case of klebsiella. *International microbiology*, 7(4), 261-268.
- Mathlouthi, n. (2017). *Déterminisme du support moléculaire et de l'épidémiologie de la résistance aux β -lactamines chez des bacilles a gram négatif isolés dans des hôpitaux tunisiens et libyens*, thèse de doctorat : Microbiologie / Pathologie humaine et maladies infectieuses. Tunis : université de tunis el manar, 201p.

- Mazri, r. (2015). *Nouvelle approche des relations structures-activités dans des molécules antibiotiques*, thèse de doctorat : Chimie théorique et pharmaceutique. Biskra : Université mohamed khider-biskra, 116p.
- Meliani, s., toumi, s., djahoudi, h., degdegh, k., amoura, k., djahoudi, a. (2020). Synergistic combination of colistin with imipenem, amikacine or ciprofloxacin against acinetobacter baumannii and pseudomonas aeruginosa carbapenem-resistant isolated in annaba hospital algeria. *Biocell*, 44(2), 175.
- Mellouk, F. Z., Bakour, S., Meradji, S., Al-Bayssari, C., Bentakouk, M. C., Zouyed, F., Rolain, J. M. (2017). First detection of VIM-4-producing Pseudomonas aeruginosa and OXA-48-producing Klebsiella pneumoniae in Northeastern (Annaba, Skikda) Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 23(3), 335-344
- Merzougui, l., barhoumi, t., guizani, t., barhoumi, h., hannachi, h., turki, e., majdoub, w. (2018). Les infections nosocomiales en milieu de réanimation: incidence annuelle et aspects cliniques au service de réanimation polyvalente, kairouan, tunisie, 2014. *The pan african medical journal*, 30.
- Mesli, e., berrazeg, m., drissi, m., bekkhoucha, s. N., rolain, j.-m. (2013). Prevalence of carbapenemase-encoding genes including new delhi metallo- β -lactamase in acinetobacter species, algeria. *International journal of infectious diseases*, 17(9), e739-e743.
- Mittal, g., gaind, r., kumar, d., kaushik, g., gupta, k. B., verma, p., deb, m. (2016). Risk factors for fecal carriage of carbapenemase producing enterobacteriaceae among intensive care unit patients from a tertiary care center in india. *Bmc microbiology*, 16(1), 138.
- Muller, a. (2017). *Bon usage des antibiotiques: résultats d'actions dans différents types d'établissements de santé*, thèse de doctorat : Sciences de la vie et de la santé. France : université bourgogne franche-Comté, 184p.
- 
- Naas, t., dortet, l., i iorga, b. (2016). Structural and functional aspects of class a carbapenemases. *Current drug targets*, 17(9), 1006-1028.
- Nauciel, c., vildé, j.-l. (2005). *Bactériologie médicale*: elsevier masson, 272p.
- Nicolas, x., granier, h., le guen, p. (2007). Shigellose ou dysenterie bacillaire. *La presse médicale*, 36(11), 1606-1618.

- Nivina, a., escudero, j. A., vit, c., mazel, d., loot, c. (2016). Efficiency of integron cassette insertion in correct orientation is ensured by the interplay of the three unpaired features of attC recombination sites. *Nucleic acids research*, 44(16), 7792-7803.
- Nizar, m. M. (2019). Consommation des antibiotiques au service de reanimation a1.
- Nordmann, p. (2010). Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles a gram négatif. *Médecine/sciences*, 26(11), 950-959.
- Nordmann, p., naas, t., poirel, l. (2011). Global spread of carbapenemase-producing enterobacteriaceae. *Emerging infectious diseases*, 17(10), 1791.



- O'hara, c. M., brenner, f. W., miller, j. M. (2000). Classification, identification, and clinical significance of proteus, providencia, and morganella. *Clinical microbiology reviews*, 13(4), 534-546.
- Ohno, y., nakamura, a., hashimoto, e., noguchi, n., matsumoto, g., fukuda, s., Komatsu, m. (2020). Fecal carriage and molecular epidemiologic characteristics of carbapenemase-producing enterobacteriales in primary care hospital in a japanese city. *Journal of infection and chemotherapy*, 26(9), 928-932.
- Omnès, c. (2018). *La témocilline: caractéristiques, position dans l'arsenal thérapeutique et étude prospective de tolérance*, thèse de doctorat : en pharmacie, France : Université De Picardie Jules Verne, 92p.



- Page M G. P. Chapter 3: Beta-Lactam Antibiotics. Antibiotic Discovery and Development. Springer New York Dordrecht Heidelberg London. 2012. DOI 10.1007/978-1-4614-1400-1
- Pagès, j.-m., james, c. E., winterhalter, m. (2008). The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in gram-negative bacteria. *Nature reviews microbiology*, 6(12), 893-903.
- Poirel, l., naas, t., nicolas, d., collet, l., bellais, s., cavallo, j.-d., nordmann, p. (2000). Characterization of vim-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo- β -lactamase and its

plasmid-and integron-borne gene from a pseudomonas aeruginosa clinical isolate in france. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(4), 891-897.

Poirel, I., Héritier, C., Tolün, V., Nordmann, P. (2004). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in klebsiella pneumoniae. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(1), 15-22.

Poirel, L., Dortet, L., & Nordmann, P. (2013). Épidémiologie des carbapénémases: Carbapénémases. *La lettre de l'infectiologue*, 28(4), 124-127

Politi, I., Gartzonika, K., Spanakis, N., Zarkotou, O., Poulou, A., Skoura, I., Tsakris, A. (2019). Emergence of ndm-1-producing klebsiella pneumoniae in greece: evidence of a widespread clonal outbreak. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 74(8), 2197-2202.



Radice, M., Power, P., Gutkind, G., Fernández, K., Vay, C., Famiglietti, A., Ayala, J. A. (2004). First class A carbapenemase isolated from enterobacteriaceae in argentina. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(3), 1068-1069.

Ramsey, C., Macgowan, A. P. (2016). A review of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of aztreonam. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 71(10), 2704-2712.

Rapp, R. P., Urban, C. (2012). Klebsiella pneumoniae carbapenemases in enterobacteriaceae: history, evolution, and microbiology concerns. *Pharmacotherapy: the journal of human pharmacology and drug therapy*, 32(5), 399-407.

Razazi, K., Brun-Buisson, C. (2014). Désescalade de l'antibiothérapie en réanimation. *Réanimation*, 23(3), 278-283.

Riethmüller, J. (2013). *La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes: étude prospective aux hôpitaux civils de Colmar du dépistage avec un milieu sélectif et intérêt de la spectrométrie de masse maldi-tof pour le criblage*, thèse de doctorat :EN Pharmacie, France :Université de Strasbourg, 162p.

Ripabelli, G., Sammarco, M. L., Scutellà, M., Felice, V., Tamburro, M. (2020). Carbapenem-resistant kpc-and tem-producing escherichia coli st131 isolated from a hospitalized patient with urinary tract infection: first isolation in molise region, central italy, july 2018. *Microbial drug resistance*, 26(1), 38-45.

- Robin, f., aggoune-khinache, n., delmas, j., naim, m., bonnet, r. (2010). Novel vim metallo- β -lactamase variant from clinical isolates of enterobacteriaceae from algeria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(1), 466-470.
- Rodriguez-martinez, j.-m., nordmann, p., fortineau, n., poirel, l. (2010). Vim-19, a metallo- β -lactamase with increased carbapenemase activity from escherichia coli and klebsiella pneumoniae. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(1), 471-476.
- Ruppé, e. (2015). Sept questions autour du microbiote intestinal et de la résistance aux antibiotiques. *Journal des anti-infectieux*, 17(1), 7-11.
- Ruppé, é., woerther, p.-l., barbier, f. (2015). Mechanisms of antimicrobial resistance in gram-negative bacilli. *Annals of intensive care*, 5(1), 21.
- Ruppé, e., andremont, a. (2013). Le microbiote intestinal est l'avenir de la multirésistance bactérienne. *Journal des anti-infectieux*, 15(4), 166-177.
- ☞
- Sachdeva, r., sharma, b., sharma, r. (2017). Evaluation of different phenotypic tests for detection of metallo- β -lactamases in imipenem-resistant pseudomonas aeruginosa. *Journal of laboratory physicians*, 9(4), 249.
- Schultz-ascensio, e. (2018). *Diffusion d'îlots génomiques de multirésistance aux antibiotiques chez proteus mirabilis*, thèse de doctorat: Infectiologie et Vaccinologie. Tours :Université De Tours, 170p.
- Schultz, m. (2008). Theobald smith. *Emerging infectious diseases*, 14(12), 1940.
- 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.
- Shakib, p. (2020). Prevalence of class 1 integron in klebsiella pneumoniae isolates from hospitals of sanandaj, iran. *International journal of medical laboratory*.
- Solgi, h., badmasti, f., aminzadeh, z., giske, c., pourahmad, m., vaziri, f., . Shahcheraghi, f. (2017). Molecular characterization of intestinal carriage of carbapenem-resistant enterobacteriaceae among inpatients at two iranian university hospitals: first report of co-production of bla ndm-7 and bla oxa-48. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 36(11), 2127-2135.
- Soria-segarra, c., soria-segarra, c., catagua-gonzález, a., gutiérrez-fernández, j. (2020). Carbapenemase producing enterobacteriaceae in intensive care units in ecuador: results from a multicenter study. *Journal of infection and public health*, 13(1), 80-88.
- Sougakoff, w., trystram, d. (2003). Résistances aux β -lactamines. *Service de bactériologie-hygiène du chu pitié-salpêtrière*, 9-12.

Suay-garcía, b., & pérez-gracia, m. T. (2019). Present and future of carbapenem-resistant enterobacteriaceae (cre) infections. *Antibiotics*, 8(3), 122.

Suwantarat, n., logan, l. K., carroll, k. C., bonomo, r. A., simner, p. J., rudin, s. D., .tamma, p. D. (2016). The prevalence and molecular epidemiology of multidrug-resistant enterobacteriaceae colonization in a pediatric intensive care unit. *Infection control and hospital epidemiology*, 37(5), 535.

J

Tani, z. B. A.-k., arlet, g. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles a gram négatif en algérie. *Pathologie biologique*, 62(3), 169-178.

Tekeli, a., dolapci, i., evren, e., oguzman, e., karahan, z. C. (2020). Characterization of klebsiella pneumoniae coproducing kpc and ndm-1 carbapenemases from turkey. *Microbial drug resistance*, 26(2), 118-125.

Thuong, m., zahar, j.-r., cohen, y. (2004). Grille de surveillance de la prescription des antibiotiques en réanimation. *La presse médicale*, 33(2), 130-136.

Tindall, b., grimont, p., garrity, g., euzeby, j. (2005). Nomenclature and taxonomy of the genus salmonella. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(1), 521-524.

Tooke, c. L., hinchliffe, p., bragginton, e. C., colenso, c. K., hirvonen, v. H., takebayashi, y., spencer, j. (2019). B-lactamases and β -lactamase inhibitors in the 21st century. *Journal of molecular biology*, 431(18), 3472-3500.

Touati, a., talbi, m., mairi, a., messis, a., adjebli, a., louardiane, m., lavigne, j. P. (2020). Fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase and carbapenemase-producing enterobacteriales strains in patients with colorectal cancer in the oncology unit of amizour hospital, algeria: a prospective cohort study. *Microbial drug resistance*. DOI: 10.1089/mdr.2019.0350

Toumi, s., meliani, s., amoura, k., racherche, a., djebien, m., djahoudi, a. (2018). Multidrug-resistant gram-negative bacilli producing oxacillinases and metallo- β -lactamases isolated from patients in intensive care unit-annaba hospital-algeria (2014-2016). *Journal of applied pharmaceutical science*, 8(07), 107-113.

Trifi, a., abdellatif, s., oueslati, m., zribi, m., daly, f., nasri, r., lakhal, s. B. (2017). Infections nosocomiales: etat des lieux dans un service de réanimation nosocomial infections: current situation in a resuscitation-unit. *La tunisie medicale*, 95(03).

T

Vallée, m. (2015). Résistance aux β -lactamines a large spectre chez les bactéries a gram négatif: épidémiologie et diagnostic. Maîtrise : microbiologie-immunologie. Canada : l'Université Laval, 137p.

Vaux, s., carbonne, a., thiolet, j.-m., jarlier, v., coignard, b., raisin, c. (2011). Emergence of carbapenemase-producing enterobacteriaceae in france, 2004 to 2011. *Eurosurveillance*, 16(22), 19880.

W

Walsh, t. R., toleman, m. A., poirel, l., nordmann, p. (2005). Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *Clinical microbiology reviews*, 18(2), 306-325.

Wolff, m., joly-guillou, m.-l., pajot, o. (2009). Les carbapénèmes. *Réanimation*, 18, s199-s208.

Y

Yagoubat, m., el-hadj-khelil, a. O., malki, a., bakour, s., touati, a., rolain, j.-m. (2017). Genetic characterisation of carbapenem-resistant gram-negative bacteria isolated from the university hospital mohamed boudiaf in ouargla, southern algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 8, 55-59

Yong, d., lee, k., yum, j. H., shin, h. B., rossolini, g. M., chong, y. (2002). Imipenem-edta disk method for differentiation of metallo- β -lactamase-producing clinical isolates of pseudomonas spp. And acinetobacter spp. *Journal of clinical microbiology*, 40(10), 3798-3801.

Z

Zahar, j.-r., weiss, e., tabah, a. (2016). Quelle définition et quelle stratification de la désescalade antibiotique? *Réanimation*, 25(3), 263-265.

Zaidi, f. Z., dali-yahia, r., zenati, k., yazi, l., lounes, m., aberkane, s., touati, a. (2019). Characterization of vim-4 producing clinical pseudomonas aeruginosa isolates from western algeria: sequence type and class 1 integron description. *Microbial drug resistance*, DOI: 10.1089/mdr.2019.0225.

Annexe

Annexes 1 : Composition des réactifs et milieux utilisés

❖ Composition des réactifs utilisés :

Réactifs	Composition	Quantité
Violet de gentiane	Violet de Gentiane	10g
	Phénol	20g
	Ethanol (90°GL)	100ml
	Eau distillée	1l
Lugol	Iodebisublimépur	5g
	Potassium Iodurepur	10g
	Eau déminéraliséeqsp	1000 ml
Fuchsine	Fuchsine basique	10g
	Alcool à 90°	100ml
	Acidephéniquécristalisé	50g
	Eau distillée	1l

❖ Composition des milieux utilisés :

1- Composition du milieu LB (LuriaBertani)

Composant du milieu	Quantité
Bactotryptone	10 g/l
Extrait de levure	5g/l
NaCl	5g/l
pH	7

• Préparation :

Dans un Erlenmeyer, les composants précédents sont mis en suspension dans 1 litre d'eau distillé, mettre sur une plaque agitatrice, verser dans des flacons stériles et autoclavés à 121 C° pendant 15 min. Après refroidissement, agiter le flacon pour s'assurer du mélange. Le pH

du milieu est mesuré par un pH mètre et ajusté à l'aide de quelques gouttes de NaOH (2N) jusqu'à l'obtention d'un $\text{pH}=7,00 \pm 0,2$.

2- Composition du Milieu MacConkey :

Composants du milieu	Quantité
Peptones bactériologiques	20g/l
Sels biliaires	1,5g/l
Chlorure de sodium	5g/l
Lactose	10g/l
Rouge neutre	0,03g/l
Cristal violet	0,001g/l
Agar	13,5 g/l
pH final	7,1±0,2

Annexe 2 :

Tableau représentant les patients admis aux services réanimation

<i>Code du patient</i>	<i>Age</i>	<i>Date du prélèvement</i>	<i>Date d'admission</i>	<i>Motif d'admission</i>	<i>Hospitalisation antérieure</i>	<i>Médications</i>
P1	35	11/03/2020	03/02/2020	Saignement intra parenchymateux+ inondation ventriculaire - tumeur cérébrale.	Transféré d' Akbou	J 3: Vancomycine 4g Dexaméthasone 2mg/J Tégréto1 200mg Lamotrigine 100mg Kepra 500 mg
P2	62		02/03/2020	PEIC Opéré repris le 08/03 pour saignement cérébrale		Mopral 40 mg/j Solumédrol 40 mg/j IO seolndextro / 6h Albumine 20% Kaligon
P3	61			AVC hémorragique opéré (accident au AVK)		Mopral 40 mg/j IO selon dextro /6h Loxen gardénal 200 mg/j bisoprolol
P4	68		21/02/2020	polytraumatisme		Fortum 2g Vancomycine 4g Albumine 20% Aganac IO selon dextro /6h Clomycine Loxen
P5	60			Troubles de conscience - détresse respiratoire		

P6	77			décompensation cardiaque		Ciprofloxacine Augmentin
P7	73					
P8	20	18/03/2020	17/03/2020	coma toxique Ingestion de raticide	Transféré de l'EPH de Kherrata Opéré en2008 (MJPU)	
P9	53		14/03/2020	Hématome intra parenchymateux cérébral opéré, admis pour une meilleure PEC	ATCD d'ulcère gastrique opéré à Kherrata	

Résumé :

La découverte des antibiotiques a fait naître l'espoir qu'il serait un jour possible de maîtriser l'ensemble des maladies infectieuses, mais l'apparition de la résistance aux antibiotiques a mis fin à ces espérances. L'incidence des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes a considérablement augmenté dans le monde au cours de la dernière décennie et constitue un problème majeur de santé publique en Algérie. En effet les souches productrices de carbapénémases sont souvent à l'origine d'infections potentiellement sévères en milieu hospitalier notamment dans les services de réanimations.

C'est dans ce contexte, que nous avons lancé une pré-étude qui porte particulièrement sur les patients en réanimations du CHU de Bejaia. A travers cette pré-étude nous avons pu faire un criblage de souches résistantes aux antibiotiques sur un milieu sélectif contenant de l'ertapénem. Ces souches sont principalement isolées à partir des échantillons qui sont pris par écouvillonnage rectal 24h-48h après l'admission. L'étape suivante qui se base sur l'identification des souches isolées ainsi que la détermination du profil et le mécanisme de résistance nous permettra de vérifier la prévalence des EPC chez les patients de réanimation.

Les infections causées par ces Gram négatives sont associées à des échecs thérapeutiques et une lourde mortalité. Le support génétique de ces résistances est essentiellement extra-chromosomique, leur détection est difficile ainsi que leur utilisation massive et parfois abusive impliquant leur fort potentiel de diffusion épidémique. Cette situation recommande une mobilisation des scientifiques pour élaborer des recherches approfondies pour comprendre la dissémination de cette multi résistance dans l'environnement hospitalier.

Mots clés : Résistance aux antibiotiques, EPC, portage fécale, réanimation, carbapénémases

Abstract :

The discovery of antibiotics raised hopes that one day it will be possible to control all infectious diseases, but the emergence of antibiotic resistance has ended those hopes. The incidence of enterobacteriaceae resistant to carbapenems has increased considerably in the world during the last decade and constitutes a major public health problem in Algeria. In fact, strains that produce carbapenemas are often the cause of severe infections in hospitals, especially in intensive care units.

We have launched a pre-study focusing on intensive care patients at the Bejaia University Hospital. Through this pre-study we were able to screen for strains resistant to antibiotics on a selective medium containing ertapenem. These strains are mainly isolates from samples which are taken by rectal swabbing 24-48 hours after admission. The next step, which is based on the identification of the strains isolated as well as the identification of the strains isolated as well as the determination of the profile and the mechanism of resistance, will allow us to verify the prevalence of CPE in intensive care patients.

The infections included by these negative Gram bacteria are associated with treatment failures and high mortality. The genetic support of these resistances is essentially extra-chromosomal, their difficult detection and their massive and sometimes abusive use involved their strong potential for epidemic spread. This situation recommends the mobilization of the scientists to develop in-depth research to understand the dissemination of this multi-resistance in the hospital environment.

Keywords : Antibiotic resistance, CPE, Faecal carriage, intensive care units, carpanemas.

ملخص:

أن اكتشاف المضادات الحيوية، شكل ثورة كبيرة في مجال الطب، حيث مهّد هذا الاكتشاف الطريق لإمكانية السيطرة على جميع الأمراض المعدية ذات يوم لكن ظهور مقاومة المضادات الحيوية وضع حدًا لتلك الآمال. حيث ارتفعت الأونة الأخيرة نسبة الإصابة بالبكتريا المعوية المقاومة للكاربابينام بشكل كبير في العالم بأسره وقد اعتبرت كمشكلة صحية رئيسية في الجزائر، حيث في الغالب ما تكون السلالات المنتجة لأنزيم الكاربابينيماز من أهم مصادر العدوى في المستشفيات وبالخصوص في وحدة العناية المركزة. في هذا السياق، أطلقنا دراسة أولية تركز على مرضى العناية المركزة في مستشفى الجامعي في بجاية. من خلال هذه الدراسة قمنا بالتحري على السلالات المقاومة للمضادات الحيوية على وسط انتقائي يحتوي على ارتابينام. حيث يتم عزل هذه السلالات بشكل أساسي من العينات التي يتم أخذها عن طريق مسحة الشرج بعد 24-48 ساعة من الدخول إلى وحدة العناية المركزة. الخطوة التالية، تعتمد بالخصوص على تحديد السلالات المعزولة وكذلك تحديد المظهر الجانبي وآلية المقاومة، وهذا ما يسمح لنا معرفة والتحقق من انتشار هذه السلالة في وحدة العناية المركزة. على العموم ترتبط العدوى التي تسببها البكتريا السالبة بفشل العلاج مع ارتفاع لنسبة الوفيات في المجمل يكون الحامل الرئيسي لهذه المقاومة خارج الكروموسوم. إن الاستعمال المفرط والعشوائي للمضادات بالإضافة لصعوبة تحديد هذه السلالات رفعا من نسبة انتشار الأوبئة. هذا الموقف يوصي الباحثين في تطوير بحوث معمقة لفهم أساليب انتشار البكتريا متعددة المقومات في محيط المستشفى

الكلمات المفتاحية: مقاومة المضادات الحيوية، البكتريا المعوية المقاومة للكاربابينام، مسحة الشرج، وحدة العناية المركزة، الكاربابينيماز.