



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور-الجلفة

Université Ziane Achour –Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم العلوم البيولوجيا

Département de Biologie

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Recherche et isolement des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) de prélèvements cliniques collectés à Djelfa

Présenté par: AIT MIMOUNE Lina

KEZRANE Khadija Nesrine

Devant le jury composé de :

Président : Mme BENCHERIT Djihad	MCB	Univ. de Djelfa
Promotrice : Mme CHENOUF Nadia Safia	MAA	Univ. de Djelfa
Co-promoteur : Mr BELMAHDI Mohamed	MCB	Univ. de Djelfa
Examineur: Mme RACHEDI Fatima Zohra	MAA	Univ. de Djelfa

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné courage, santé et volonté durant toutes ces longues années d'études afin de réaliser ce travail malgré les contraintes du Covid.

Nos sincères remerciements s'adressent à notre encadrante **Mme CHENOUF Nadia Safia**, pour la qualité de son enseignement lors de notre cursus en Master Microbiologie Appliquée, et on la remercie pour sa disponibilité et nous avoir suivi tout au long du travail avec sérieux. Votre simplicité et gentillesse nous ont énormément marqué et nous ont encouragé à s'intéresser à notre formation davantage.

Nous remercions le président en l'occurrence **Mme BENCHERIT Djihad** de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury et **Mme RACHEDI Fatima Zohra** d'avoir pris le temps de participer au jury de notre mémoire, vous prions d'agréer notre profonde gratitude.

Merci infiniment aux laborantins de l'EPH de Djelfa d'avoir consacré à ce travail une partie de leur temps précieux pour nous apprendre leur savoir-faire et d'avoir accepté aimablement de participer aux tâches de bactériologie avec rigueur et bienveillance.

Nos profonds remerciements vont également aux médecins biologistes : **Mme Kaci, Mr Medah, Mr Homida** d'avoir contribué à notre réussite de fin de cycle.

Et quant aux collègues de laboratoires **Hachi Belkacem, Othmani Fatiha, Tiffour Maghnia, Bouabdeli Achouak, Routal Rachda, Gasmia Imane, Toumi Selma, NaibiNour** nous les remercions pour leur loyauté et les grands efforts fournis.

Sans oublier tous les ingénieurs du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie et notre Co-promoteur **Mr Belmahdi Mohammed** pour leur assistance technique.



Dédicace

Nous dédions ce mémoire à :

Nos très chers parents ; aucun mot ne pourrait exprimer réellement votre juste valeur, et la profondeur de notre respect et notre amour. Merci pour votre soutien sans faille et votre patience. Puisse Dieu vous procurer santé, bonheur et longue vie.

Nos frères et sœurs ; merci de nous avoir continuellement encouragés.

Nos chers amis, cousins et cousines ; merci pour votre gentillesse, votre encouragement et les bons moments qu'on a passé ensemble.

Merci à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin.

Lina & Khadija



Table des matières

Liste des abréviations

Liste des annexes

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèse bibliographique.

Chapitre I:Phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques.....

1. Antibiotiques.....	3
2. Classification des antibiotiques.....	4
3. Modes d'actions des antibiotiques	11
3.1. Antibiotiques ciblant la paroi cellulaire	11
3.2. Blocage des principales voies métaboliques	13
3.3. Inhibition de la synthèse protéique.....	14
3.3.1. Inhibition du ribosome 50S.....	14
3.3.2. Inhibition du ribosome 30S.....	15
3.4. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques.....	15
3.4.1. Inhibition de la réplication de l'ADN par les quinolones.....	15
3.4.2. Inhibition de la transcription d'ARN.....	16
3.5. Inhibition de la fonction de la membrane cellulaire	17

Chapitre II : Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

1. Notion de résistance bactérienne aux antibiotiques	18
1.1. Résistance intrinsèque	18
1.2. Résistance acquise	18
2. Mécanismes biochimiques de résistances aux antibiotiques.....	19
2.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	20
2.2. Pompes à efflux	21
2.3. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique.....	22
2.4. Protection de la cible de l'antibiotique.....	22
2.5. Réduction de la perméabilité cellulaire	23
2.6. Piégeage de l'antibiotique	23
3. β -lactamases (BL)	23
4. β -lactamases à spectre étendu (BLSE).....	25
4.1. Définition	25
4.2 Classification des BLSE.....	25
4.2.1 BLSE de type TEM	25
4.2.2 BLSE de type SHV.....	26

4.2.3 BLSE de type CTX-M.....	27
4.2.4 BLSE de type OXA	28
5. Prévalence et diversité des entérobactéries productrices de BLSE dans les hôpitaux algériens	28

Partie pratique.

Chapitre III:Matériel & méthodes
1. Origine et collecte des souches bactériennes.....	33
2. Méthodes	36
2.1. Repiquage des souches collectées	36
2.2. Identification des souches collectées.....	36
2.2.1. Étude macroscopique des colonies.....	36
2.2.2. Étude microscopique par coloration de Gram	37
2.2.3. Identification biochimique des souches d'entérobactéries	38
2.2.3.1. Galerie biochimique classique.....	38
2.2.3.2. Galerie API 20 E (analytical profile index).....	42
a. Principe.....	42
b. Mode opératoire	43
- Préparation de la galerie.....	43
- Préparation de l'inoculum	43
- Inoculation de la galerie	43
- Lecture de la galerie	44
- Interprétation de la galerie	45
2.3. Étude de la sensibilisation aux antibiotiques.....	46
- Principe	46
a- Inoculum	47
b- Ensemencement	48
c- Application des disques d'antibiotiques.....	48
d- Incubation	49
e- Lecture	49
2.4. Recherche des BLSE «test de synergie »	49
Chapitre IV : Résultats & discussion.....
1. Répartition des échantillons selon le type de prélèvement.....	50
2. Répartition des échantillons selon le sexe du malade.....	50
3. Fréquence d'isolement par espèce.....	51
4. Profil de résistance des souches isolées.....	58
5. Prévalence des bactéries BLSE	60
Conclusion.....	64
Références bibliographiques	66

Liste des abréviations

A.sp :	<i>Acinetobacter sp.</i>
ABC :	Adenosine triphosphate-Binding Cassette.
ADH :	Arginine Dihydrolase.
ADN :	Acide désoxyribonucléique.
AMC :	Amoxicilline+ Acide Clavulanique.
AmpC :	Adénosine monophosphate cyclique
API 20E :	Analytical Profile Index 20 Entérobactérie.
ARN :	Acide ribonucléique.
ARNm :	Acide ribonucléique messenger.
ARNr :	Acide ribonucléique ribosomique.
ARNt :	Acide ribonucléique de transfert.
ATP :	Adénosin-Triphosphate.
BLSE :	Béta-lactamases à spectre étendu
C:	Chloramphénicol.
C.sp :	<i>Citrobacter sp.</i>
C1G :	Céphalosporines des 1 ^{ère} génération .
C2G :	Céphalosporines des 2 ^{ème} génération.
C3G :	Céphalosporines des 3 ^{ème} génération.
C4G :	Céphalosporines des 4 ^{ème} génération.
CAZ :	Ceftazidime.
CHF :	Chirurgie femme.
CHH :	Chirurgie homme.
CIP :	Ciprofloxacine.
CIT :	Citrate.
CLSI :	Clinical & Laboratory Standards Institute.
COT :	Cotrimoxazole.
CTX :	Céfotaxime.
CTX-M :	Céfotaximase-Muenchen.
CZ :	Céfazoline.
DHFA :	Acide dihydrofolique.
E.coli :	<i>Escherichia coli.</i>

<i>E.sp</i> :	<i>Enterobacter.sp.</i>
ECBU :	Examen cyto bactériologique des urines.
EDTA :	Éthylène-diamine tétra-acétique.
<i>Ent.c</i> :	<i>Enterobacter cloacae.</i>
EPH :	Établissement Public Hospitalier.
FEP :	Céfépime.
FO :	Fosfomycine.
G :	Grossissement.
GEL :	Gélatine.
GEN :	Gentamycine.
Gly :	Glycine.
GN :	Gélose Nutritive.
HO :	Laboratoire Homida.
IMI :	Imipénème.
IND :	Indole.
IU :	Infection Urinaire .
<i>K.o</i> :	<i>Klebsiella oxytoca.</i>
<i>K.p</i> :	<i>Klebsiella pneumoniae.</i>
<i>K.sp</i> :	<i>Klebsiella sp.</i>
LCR :	Liquide Céphalo-Rachidien.
LDC :	Lysine Décarboxylase.
LPS :	Lipopolysaccharide.
Lys :	Lysine.
<i>M.m</i> :	<i>Morganella morganii.</i>
MATE :	Multidrug And Toxic compound Extrusion.
MED :	Laboratoire Medah.
MF :	Mère et Enfant.
MFS :	Major Facilitator Superfamily.
MH :	Mueller-Hinton.
MLS :	Macrolides, Lincosamides, Streptogramines.
NAG :	N-acétyl glucosamine.
NAM :	N-acide acétyl muramique.
ODC :	Ornithine Décarboxylase.

OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
ONPG :	Orthonitrophényl- β -galactoside.
OXA :	Oxacillinase.
<i>P.a</i> :	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
<i>P.f</i> :	<i>Pseudomonas fluorescens</i> .
<i>P.m</i> :	<i>Proteus mirabilis</i> .
<i>P.sp</i> :	<i>Pseudomonas .sp</i> .
PABA :	Acide para-aminobenzoïque.
PACE :	Proteobacterial Antimicrobial Compounds Efflux.
PED :	Service de pédiatrie.
PH :	Pneumo-Phtisiologie.
PLP :	Proteine Liant à la pénicilline.
Qnr :	Quinolone resistance.
RM :	Rouge de Méthyle.
RND :	Resistance Nodulation cell Division.
<i>S.l</i> :	<i>Serratia liquefaciens</i> .
<i>S.s</i> :	<i>Shigella sonnei</i> .
Ser :	Serine.
SHV :	Sulfhydryl Variable.
SMR :	Small Multidrug Resistance.
SNV :	Science de la nature et de la Vie.
TDA :	Test Direct à l'Antiglobuline.
TEM :	Temoneira-Nom du patient.
THFA :	Acide tétrahydrofolique
TOB :	Tobramycine.
TSI :	Triple Sugar Iron.
UMC :	Urgences Médico-Chirurgicales.
URE :	Urée.
VP :	Voges-Proskauer.
<i>Y.sp</i> :	<i>Yersinia sp</i> .

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1 :	Inhibition de la croissance d'une culture de <i>Staphylococcus aureus</i> par la moisissure <i>Penicillium notatum</i> .	3
Figure 2 :	Principales classes d'antibiotiques dérivées de produits naturels.	4
Figure 3 :	Principales cibles des antibiotiques.	11
Figure 4 :	Mécanisme d'action des β -lactamines.	12
Figure 5 :	Voie simplifiée des combinaisons sulfamides et triméthoprimes.	13
Figure 6 :	Mécanisme d'action de l'azithromycine (macrolide).	14
Figure 7 :	Mécanisme d'action des aminosides.	15
Figure 8 :	Mécanisme d'action des quinolones.	16
Figure 9 :	Mécanisme d'action de la rifampicine.	16
Figure 10 :	Mécanisme d'action de la colistine.	17
Figure 11 :	Transfert horizontal de gènes de résistance entre les bactéries.	19
Figure 12 :	Principales stratégie de la résistance bactérienne.	19
Figure 13 :	Intéraction directe enzyme-antibiotique.	20
Figure 14 :	Principales familles des pompes d'efflux.	21
Figure 15 :	Modification/protection de la cible.	22
Figure 16 :	Hydrolyse d'un β -lactamine par une β -lactamase.	23
Figure 17 :	Schéma de classification des β -lactamines selon Ambler.	24
Figure 18 :	Substitutions d'acides aminés dans les dérivés BLSE de type TEM.	26
Figure 19 :	Substitutions d'acides aminés dans les dérivés BLSE de type SHV.	27
Figure 20 :	Diagramme en arbre montrant les différents clusters des enzymes CTX-M.	28
Figure 21 :	Différents types de prélèvements reçus au laboratoire.	33

Figure 22 :	Repiquage des souches sur Hektoen et MacConkey par la méthode des quadrants.	36
Figure 23 :	Aspect des colonies des souches ; a : <i>Klebsiella oxytoca</i> sur MacConkey, b : <i>E.coli</i> sur Hektoen , c : <i>Proteus mirabilis</i> , d : <i>E.coli</i> sur MacConkey.	37
Figure 24 :	Coloration de Gram d'une entérobactérie sous microscope optique.	38
Figure 25 :	Tests biochimiques réalisés ; a : TSI , b :ONPG , c : Clark et Lubs , d : LDC,ODC et ADH , e :Indole , f : Citrate de Simmons , i : Mannitol – mobilité .	41
Figure 26 :	Présentation de la galerie API 20E .	42
Figure 27 :	Inoculation de la galerie API20E.	44
Figure 28 :	Lecture de la galerie API 20E.	44
Figure 29 :	Réalisation du profil numérique.	45
Figure 30 :	Identification sur https://lab.upbm.org/ .	45
Figure 31 :	Disques d'antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.	46
Figure 32 :	Application des disques d'antibiotiques sur milieu MH ensemencé.	48
Figure 33 :	Mesure des zones d'inhibitions.	49
Figure 34 :	Répartition des échantillons selon le type de prélèvement.	50
Figure 35 :	Répartition des échantillons collectés selon le sexe du malade.	51
Figure 36 :	Répartition des entérobactéries collectées selon l'espèce.	51
Figure 37 :	Identification d' <i>E. coli</i> par galerie API20E.	52
Figure 38 :	Identification de <i>Klebsiella pneumoniae</i> par galerie API20E .	52
Figure 39 :	Profil de résistance et de sensibilité chez les entérobactéries.	58
Figure 40 :	Images de synergie observées chez <i>E. coli</i> 223 et <i>K. pneumoniae</i> 302.	60
Figure 41 :	Photographies de souches résistances aux C3G avec absence de synergie.	62

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1 :	Classification des antibiotiques selon la structure chimique.	5
Tableau 2 :	La détection des entérobactéries productrices de BLSE en milieu hospitalier.	29
Tableau 3 :	Origine et répartition des différentes souches bactériennes collectées.	34
Tableau 4 :	Tests biochimiques réalisés.	38
Tableau 5 :	Antibiotiques testés dans l'antibiogramme.	47
Tableau 6 :	Fréquence d'isolement selon le type de prélèvement et le sexe du malade.	53

Liste des annexes

Annexe 1 : Profil de résistance des souches collectées.

INTRODUCTION

Introduction

La découverte des antibiotiques au début du XXe siècle a constitué une véritable révolution dans le domaine médical (Monnet, 2000). Suite à l'introduction des antibiotiques, le bénéfice le plus significatif en termes de santé humaine était la diminution massive des décès dus aux maladies infectieuses. En effet, le taux de mortalité globale est passé de près de 33% à environ 4% à la fin du XXe siècle, subséquemment à l'utilisation de ces molécules miracles (Kardos et Demain, 2011). De plus, sans ces agents antimicrobiens, les grandes avancées de la médecine n'auraient pas été possibles (Choffnes et *al.*, 2010).

Cependant, cette euphorie, longtemps entretenue par la synthèse de nouveaux antibiotiques, a connu un coup d'arrêt (Monnet, 2000), car certaines bactéries ont présenté rapidement leur capacité à s'adapter et à neutraliser l'effet des antibiotiques, notamment par dégradation enzymatique (Abraham et Chain, 1940). De plus, Alexander Fleming le père de l'antibiothérapie, craignait les conséquences négatives potentielles qui pourraient découler d'une utilisation incontrôlée des antibiotiques (Lobanovska et Pilla, 2017).

Seulement sept décennies après leur découverte, l'utilisation excessive et peu contrôlée des antibiotiques a mené à un déclin prémédité de ce remède miracle. Tel que prédit par la théorie de l'évolution, les bactéries développent des mécanismes de résistance suite aux phénomènes de la pression de sélection. Cette résistance est en perpétuelle évolution et peut provoquer des impasses thérapeutiques énormes. Selon un rapport établi par le gouvernement britannique, au moins 700 000 personnes meurent chaque année à cause de ces résistances aux antibiotiques. Ce chiffre pourrait passer à dix millions de personnes en 2050 (O'Neill, 2016).

Les entérobactéries sont des germes fréquemment retrouvés dans les pathologies infectieuses humaines telles que les abcès, les pneumonies, les méningites et les cystites. De par la virulence des infections qu'elles causent et de par leur faculté à devenir résistantes (ou parfois multi-résistantes) aux antibiotiques, ces bactéries posent aujourd'hui un véritable problème de santé publique aussi bien en milieu hospitalier que communautaire (Diagne et *al.*, 2018). L'émergence des entérobactéries multi-résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) est souvent attribuée à l'acquisition de gènes codant des β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Ces enzymes (TEM, SHV, CTX-M et leurs dérivés) confèrent à ces bactéries une résistance à

l'ensemble des β -lactamines à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes. Elles sont inhibées partiellement par les inhibiteurs de β -lactamase. Les gènes codant pour ces enzymes sont portés par des éléments génétiques mobiles, notamment des plasmides d'où la propagation rapide et l'émergence des entérobactéries productrices de BLSE partout dans le monde (Bradford, 2001).

En Algérie, Touati *et al.* (2006) ont signalé la première détection de souches productrices de BLSE dans deux hôpitaux de Béjaia. Quelques mois plus tard, Ramdani-Bouguessa *et al.*, (2006) ont rapporté leur détection à l'hôpital Mustapha Pacha d'Alger. D'autres études ont ensuite communiqué l'isolement de ces souches résistantes, notamment à Tlemcen (Baba-Ahmed *et al.*, 2012 ; Zenati *et al.*, 2019), à Constantine (Agabou *et al.*, 2014), à Sétif (Nabti *et al.*, 2017).

A l'instar de ces travaux, ce mémoire a pour objectif d'étudier le profil de résistance des souches cliniques d'entérobactéries collectées à l'établissement public hospitalier EPH Mouhad Abdelkader et des deux laboratoires d'analyses médicales Homaida et Meddah Abdelaziz situés dans la ville de Djelfa, et l'estimation de la prévalence des entérobactéries sécrétrices de BLSE.

Ce mémoire est présenté en trois parties. La première partie consiste en une synthèse bibliographique rappelant les modes d'action des antibiotiques et les principaux mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Dans la deuxième partie, seront présentés le matériel et les méthodes/protocoles utilisés dans l'étude expérimentale. La troisième partie sera consacrée à la présentation des résultats obtenus et leur discussion. A la fin de ce manuscrit, nous terminerons par une conclusion qui résume l'étude et nous suggérons des perspectives.

CHAPITRE I

Phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques

Chapitre I

Phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques

1. Antibiotiques :

En 1928, le scientifique Ecossais Alexander Fleming a remarqué un phénomène inhabituel sur une vieille plaque de culture de *Staphylococcus aureus* qui a été contaminée par un champignon du sol *Penicillium notatum* (figure1). Il a constaté, alors, qu'autour des moisissures, la bactérie ne s'est pas développée et a émis l'hypothèse que le champignon sécrète une substance antibactérienne dans la zone adjacente à sa croissance, qu'il a nommé pénicilline (Fleming, 1929).

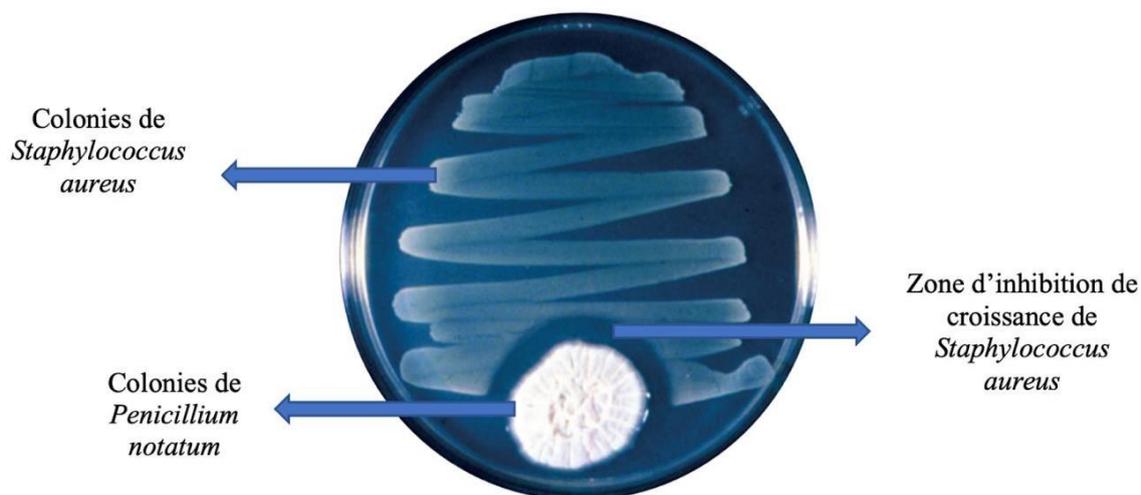


Figure 1 : Inhibition de la croissance d'une culture de *Staphylococcus aureus* par la moisissure *Penicillium notatum* (Prescott, 2010).

Le terme antibiotique a été inventé à partir du mot « antibiose » qui signifie du grec « anti : contre » et « bios : la vie ». La définition du mot antibiotique réfère strictement aux substances antimicrobiennes (Muylaert et Mainil, 2012). Ce sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique d'origine biologique produite essentiellement par un micro-organisme champignons (ex. *Penicillium* et *Cephalosporium*) ou bactéries (ex. *Streptomyces*, *Micromonospora* et *Bacillus*) (figure 2). Ils peuvent aussi être synthétiques (produits par synthèse chimique) tels que les sulfamides et les quinolones ou semi-synthétique telles que l'amoxicilline et l'amikacine qui sont, en fait, des antibiotiques naturels modifiés par l'addition de groupements chimiques (Prescott, 2010 ; Muylaert et Mainil, 2012 ; Marilyse, 2015 ; Mangin, 2016).

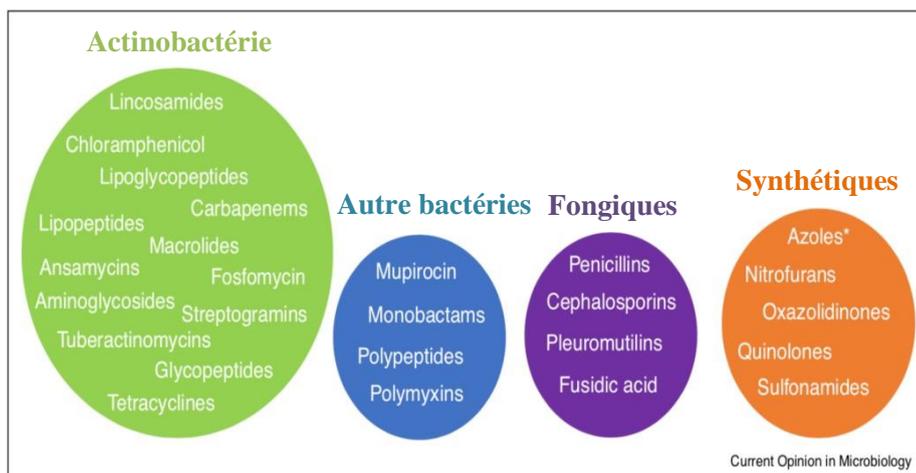


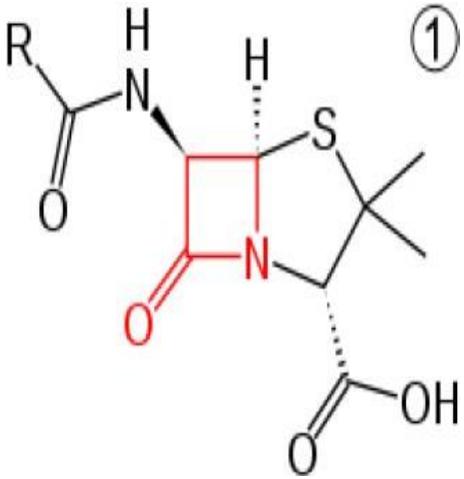
Figure 2 : Principales classes d'antibiotiques dérivées de produits naturels
(Hutchings et al., 2019)

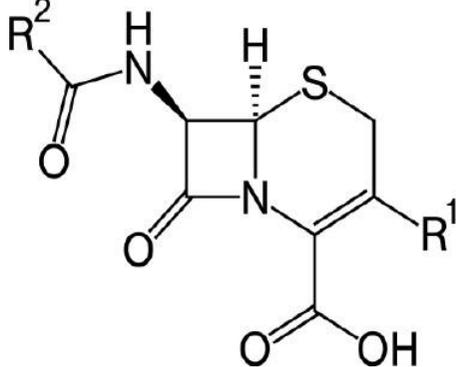
Les antibiotiques peuvent avoir un effet bactéricide s'ils induisent la mort des bactéries. Exemple : les pénicillines, ou bactériostatique quand ils inhibent sélectivement la croissance bactérienne comme les tétracyclines (Kohanski et al., 2010). Pour être actifs, les antibiotiques doivent pénétrer la bactérie sans être détruits ou altérés, afin de cibler des processus vitaux de la cellule bactérienne (synthèses protéiques, synthèse des acides nucléiques, réplication, transcription, transport transmembranaire, ...etc.) (Ogawara, 1981),

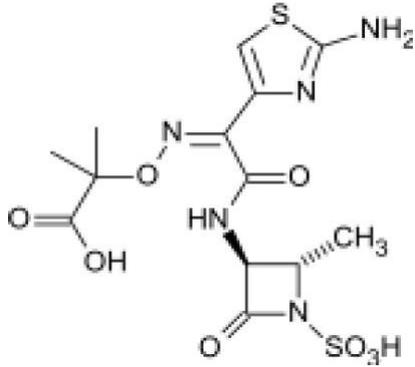
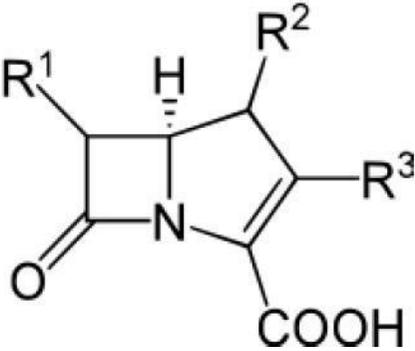
2. Classification des antibiotiques :

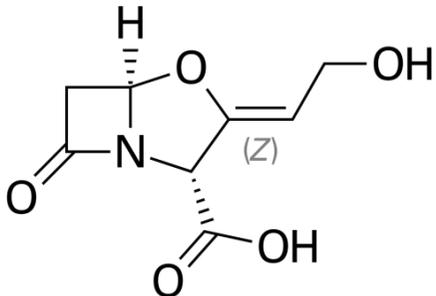
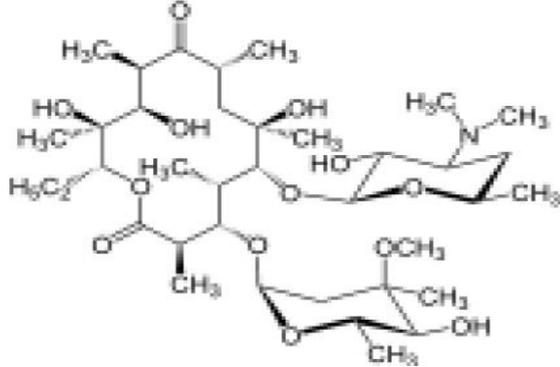
La classification des antibiotiques peut se faire selon leur origine (naturelle ou de synthèse), leur mode d'action sur la bactérie, leur spectre d'activité ou encore leur structure chimique (Ebimiewei et al., 2016). Comme illustré dans le tableau ci-après, la classification basée sur la structure chimique reste la plus fréquemment utilisée.

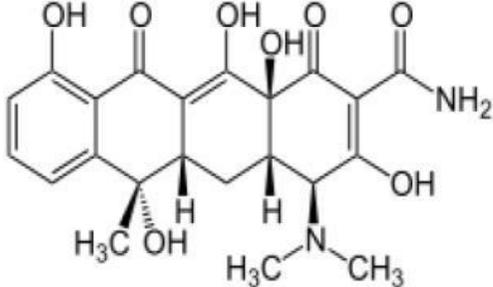
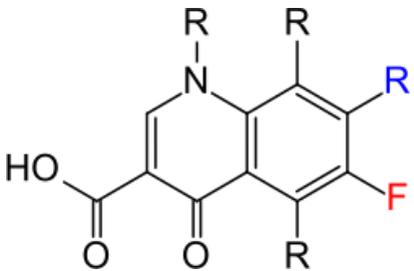
Tableau 1 : Classification des antibiotiques selon la structure chimique.

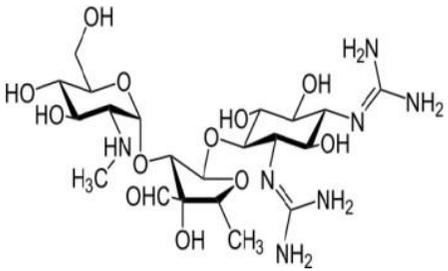
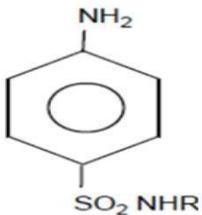
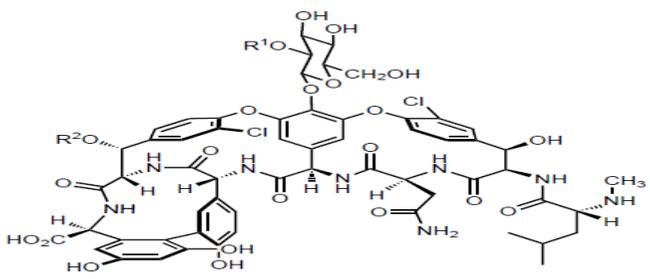
Antibiotiques	Origine et année de découverte	Spectre d'activité	Structure
Les β-lactamines			
1. Pénicillines			
-Pénicillines G et V sensibles aux pénicillinases (La benzylpénicilline,)	1929, synthétisée par <i>Penicillium notatum</i> .	- Spectre étroit	<p>Elles possèdent un noyau β-lactame associé à un noyau thiazolidine qui forme l'acide 6-amino-pénicillanique et une chaîne latérale qui porte les modifications structurales</p> 
- Pénicillines antistaphy-lococciques résistantes aux pénicillinases (pénicillines M)		- Spectre étroit	
-Carboxypénicillines et uréidopénicillines	- semi-synthétiques	- Spectre élargi	
- Amidinopénicillines		- Spectre élargi	
- Pénicillines sulfones (sulbactam et tazobactam)		- Spectre élargi	

<p>2. Céphalosporines</p> <p>-Céphalosporines de première génération (céfalotine, céfalexine)</p> <p>-Céphalosporines de deuxième génération (céfuroxime, céfamandol)</p> <p>-Céphalosporines de troisième génération (céfixime, céfotaxime, ceftazidime)</p> <p>-Céphalosporines de quatrième génération (céfépime et cefpirome)</p>	<p>1945, à partir de <i>Cephalosporium acremonium</i>.</p>	<p>-C1G : actives sur les bactéries à Gram positif.</p> <p>- C2G : spectre étendu vers les bactéries à Gram négatif.</p> <p>- C3G : spectre étendu à la plupart des entérobactéries et sur <i>P. aeruginosa</i> pour la ceftazidime.</p> <p>-Les C4G : stables à l'hydrolyse des céphalosporinases de type AmpC.</p>	<p>Elles se diffèrent des pénicillines par le remplacement du cycle thiazolidine par un cycle dihydrothiazine (l'acide 7-amino céphalosporanique)</p> 
--	--	--	---

<p>3. Monobactames</p> <p>L'aztréonam : seul monobactame commercialisé</p>	<p>1976, à partir de <i>Chromobacterium violaceum</i></p>	<p>Bactéries aérobies à Gram négatif</p>	<p>Ils se caractérisent par la présence d'un noyau monocyclique</p>  <p>The image shows the chemical structure of Aztreonam, a monobactam. It features a monocyclic beta-lactam ring fused to a 5-membered imidazole ring. The imidazole ring has a methyl group (CH3) and a sulfonic acid group (SO3H) attached. The beta-lactam ring is substituted with a side chain containing a thiazolidine ring with an amino group (NH2) and a methyl group (CH3), and a methyl ester group (O-C(CH3)2-COOH).</p>
<p>4. Carbapénèmes</p> <p>L'imipénème, l'ertapénème, le méropénème et le doripénème</p>	<p>1976, à partir de <i>Streptomyces clavuligerus</i></p>	<p>Spectre très large. Elles résistent à l'hydrolyse de la plupart des β-lactamases.</p>	<p>Elles dérivent de la thiénamycine</p>  <p>The image shows the chemical structure of Thiendamycin, the parent compound of carbapenems. It consists of a bicyclic core with a five-membered imidazole ring fused to a six-membered thiopyridine ring. The thiopyridine ring has a carboxylic acid group (COOH) and a hydrogen atom (H) attached. The imidazole ring has a carbonyl group (C=O) and a methyl group (CH3) attached. The thiopyridine ring is substituted with three R groups (R1, R2, R3) at the 2, 3, and 4 positions.</p>

<p>5. Inhibiteurs des β-lactamases</p> <p>Trois inhibiteurs de β-lactamases sont commercialisés et sont disponibles dans de différentes combinaisons :</p> <p>amoxicilline/clavulanate ampicilline/sulbactame piperacillin/tazobactame</p>	<p>1970 à partir de <i>Streptomyces clavuligerus</i></p>	<p>Spectre large</p>	<p>Acide clavulanique/amoxicilline (Augmentin) Acide clavulanique/ticarcilline (Claventin) Tazobactam/pipéracilline (Tazocilline)</p> 
<p>Macrolides</p>	<p>1952 à partir de <i>Streptomyces erythreus</i></p>	<p>Spectre étroit (bactéries à Gram positif)</p>	<p>Elles sont caractérisées par la présence de 14, 15 ou 16 atomes dans leur macrocycle</p> 

<p>Tétracyclines</p> <p>Première génération : naturelles : chlortétracycline, oxytétracycline</p> <p>Deuxième génération : semi-synthétiques : doxycycline , lymécycline , métacycline, minocycline, rolitetracycline, meclocycline.</p> <p>Troisième génération : synthétiques : Tigécycline</p>	<p>1945 à partir de souches de <i>Streptomyces</i> <i>aureofaciens</i> et <i>S.</i> <i>rimosus</i></p>	<p>Spectre très large (bactéries à Gram positif et Gram- négatif, bactéries aérobies et anaérobies, bactéries atypiques certains parasites protozoaires)</p>	<p>La structure de base de la tétracycline consiste en un noyau hydronaphtacène contenant quatre anneaux fusionnés.</p> 
<p>Quinolones</p> <p>Première génération : acide nalidixique</p> <p>Deuxième génération : norfloxacin, ciprofloxacine</p> <p>Troisième génération : lévofloxacine</p> <p>Quatrième génération : moxifloxacine, gémifloxacine</p>	<p>1962 à partir de la chloroquine (synthétique)</p>	<p>Spectre très large (bactéries à Gram positif et Gram négatif, bactéries atypiques et bactéries anaérobies)</p>	<p>- Les quinolones de 1ère génération : acide organique isolé d'une préparation de chloroquine. Ceux de 2ème, 3ème et 4ème générations sont des fluoroquinolones (contiennent le fluor)</p> 

<p>Aminosides</p>	<p>1943 à partir de <i>Streptomyces griseus</i></p>	<p>Spectre large</p>	<p>Composés de 3 amino-sucres liés par des liaisons glycosidiques</p> 
<p>Sulfamides</p>	<p>1935 par synthèse chimique</p>	<p>Spectre large</p>	<p>Leur composition comprend un groupe sulfonamide attaché à un groupe amine.</p> 
<p>Glycopeptides</p>	<p>1950, <i>Streptomyces orientalis</i> (<i>Amicolatopsis orientalis</i>)</p>	<p>Spectre étroit (bactéries à Gram positif).</p>	<p>Ils comportent un noyau central peptidique de sept acides aminés liés à deux sucres</p> 

Adapté de (Kelly, 2017 ; Ebimiewei et *al.*, 2016 ; Ruppé, 2010 ; Linda et *al.*,2001 ; Drawz et Bonom, 2010 ; Weist et *al.*, 2002 ; Léone et *al.*, 2000 ; Pootoolal et *al.*, 2022 ; Cambau et Williams, 2019 ; Heidary et *al.*, 2022 ; Bialvaei et Samadi, 2015 ; Zango et *al.*, 2019).

3. Modes d'actions des antibiotiques :

Le pouvoir antimicrobien de la plupart des classes d'antibiotiques est dirigé vers une caractéristique unique de la structure bactérienne ou de leurs processus métaboliques (Etebu et Arikekpar, 2016). Les cibles les plus courantes d'antibiotiques sont illustrées dans la figure 3.

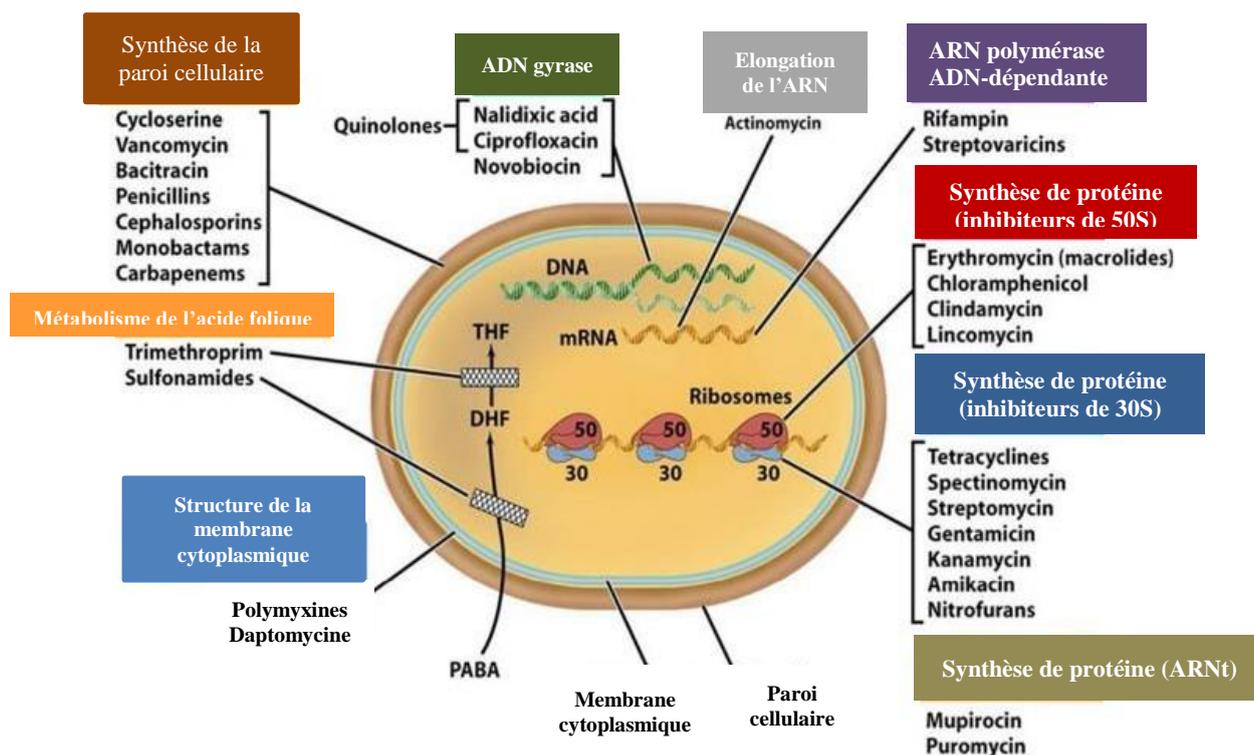


Figure 3 : Principales cibles des antibiotiques (Etebu et Arikekpar, 2016).

3.1. Antibiotiques ciblant la paroi cellulaire :

Comme indiqué dans la figure 4, les parois cellulaires des micro-organismes sont constituées de peptidoglycanes (Kırmusaoğlu et *al.*, 2019), un polymère de deux unités alternées : la N-acétylglucosamine (NAG) et d'acide N-acétyl-muramique (NAM) reliés par une transglycosidase (Walsh, 2003 ; Zango et *al.*, 2019). Cette réticulation renforce la paroi cellulaire (Kapoor et *al.*, 2017).

La résistance mécanique fournie par cette couche de paroi cellulaire est essentielle à la capacité des bactéries à survivre à des conditions environnementales susceptibles de modifier la pression osmotique. Il convient de noter que le degré de réticulation du peptidoglycane est en

corrélation avec l'intégrité structurelle de la cellule. Le maintien de la couche de peptidoglycane est assuré grâce aux activités (transglycosylases et transpeptidases) des protéines de liaison à la pénicilline PLP (Kohanski *et al.*, 2010).

Les principales cibles des β -lactamines (y compris les pénicillines, les carbapénèmes et les céphalosporines) sont les PLP. Ces médicaments sont des analogues structuraux de D-alanyl-D-alanine de l'acide NAM, qui se lie au site actif de PLP pendant la réaction de transpeptidation (Kırmusaoğlu *et al.*, 2019). A cet effet, les PLP interagissent avec le cycle β -lactame et ne synthétisent plus de nouveaux peptidoglycans, ce qui conduit à la lyse cellulaire (Kapoor *et al.*, 2017).

La plupart des glycopeptides tels que la vancomycine sont capables d'inhiber la croissance bactérienne par un mécanisme similaire à celui des β -lactamines (Etebu et Arikekpar, 2016).

Mécanisme d'action des β -lactamines

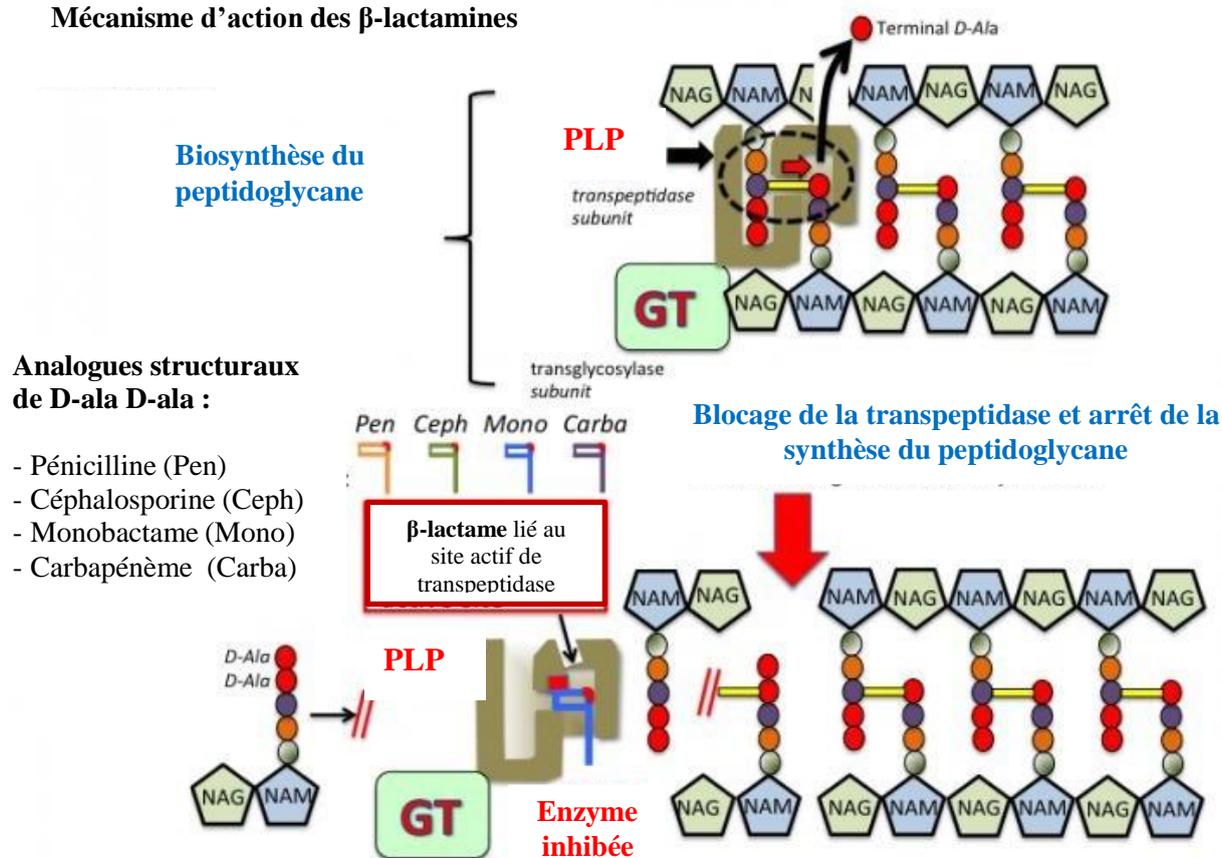


Figure 4 : Mécanisme d'action des β -lactamines (Zango *et al.*, 2019).

3.2. Blocage des principales voies métaboliques :

Certains antibiotiques, tels que les sulfonamides et le triméthoprime, imitent les substrats nécessaires au métabolisme de l'acide folique des cellules bactériennes. En particulier, les sulfamides agissent comme le tétrahydrofolate qui est nécessaire pour la synthèse de l'acide folique dans les cellules bactériennes (Etebu et Arikekpar, 2016).

Les sulfamides sont sélectivement bactériostatiques car les bactéries ne peuvent pas utiliser l'acide folique préformé et doivent le synthétiser elles-mêmes. L'action des sulfamides dépend de la similarité chimique avec l'acide para-aminobenzoïque PABA. Ils agissent comme un faux substrat et entrent en compétition avec le PABA pour l'enzyme dihydrofolate synthase et bloquent la synthèse de l'acide dihydrofolique (DHFA). A son tour, le triméthoprime inhibe la synthèse de l'acide tétrahydrofolique (THFA).

L'acide folique agit comme un donneur de carbone pour la synthèse d'acide nucléique (ADN-ARN) et d'acides aminés. La croissance et la division cessent en raison de l'inhibition de la biosynthèse de l'acide folique (Dowling *et al.*, 2017). Ce mode d'action est présenté dans la figure suivante :

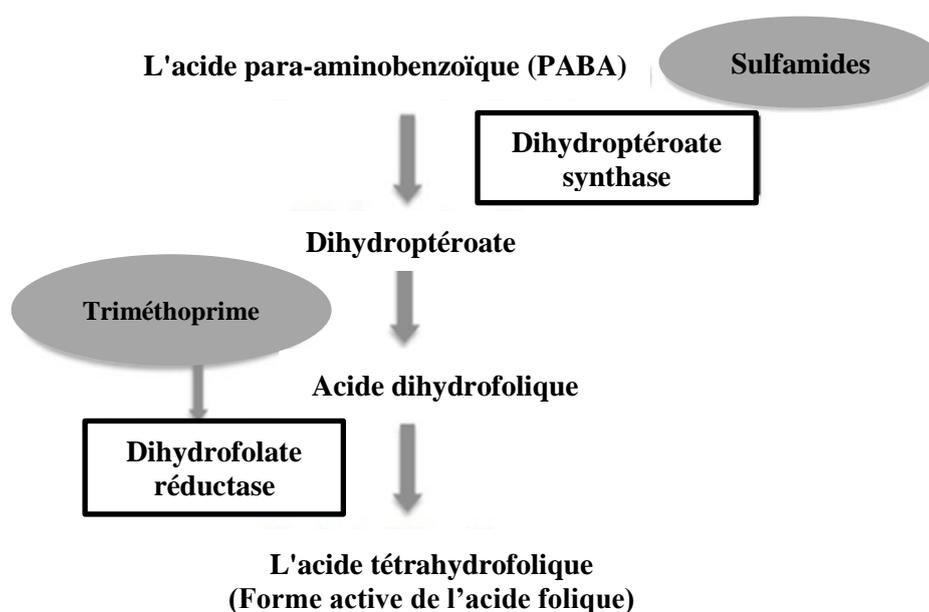


Figure 5 : Voie simplifiée des combinaisons sulfamides et triméthoprimes (Dowling *et al.*, 2017).

3.3. Inhibition de la synthèse protéique :

L'expression génétique comporte deux phases : la transcription et la traduction. Durant cette dernière étape, l'acide ribonucléique de transfert (ARNt) déchiffre les codons contenus dans l'ARNm en une séquence d'acides aminés qui sont les éléments constitutifs des protéines. L'acide ribonucléique ribosomique (ARNr) comprend deux sous-unités 30S et 50S qui sont assemblées pendant la phase d'initiation. La traduction se fait sur trois phases séquentielles (initiation, élongation et terminaison) (Etebu et Arikekpar, 2016). Certains antibiotiques bloquent les processus au niveau du ribosome 50S et d'autres agissent au niveau du ribosome 30S (Walsh, 2003).

3.3.1. Inhibition du ribosome 50S :

Certains antibiotiques agissent par inhibition du ribosome 50S (figure 6). Ce groupe d'antibiotiques comprend les macrolides (par exemple, l'érythromycine et l'azithromycine), les lincosamides (par exemple, clindamycine), streptogramines (par exemple, dalfopriline–quinupristine), les phénicolés (par exemple, le chloramphénicol) et les oxazolidinones (par exemple, le linézolide) (Kohanski et *al.*, 2010). Ils bloquent soit la phase d'initiation de la traduction (Oxazolidinones) ou la phase d'élongation (macrolides, lincosamides et la streptogramine) (Etebu et Arikekpar, 2016).

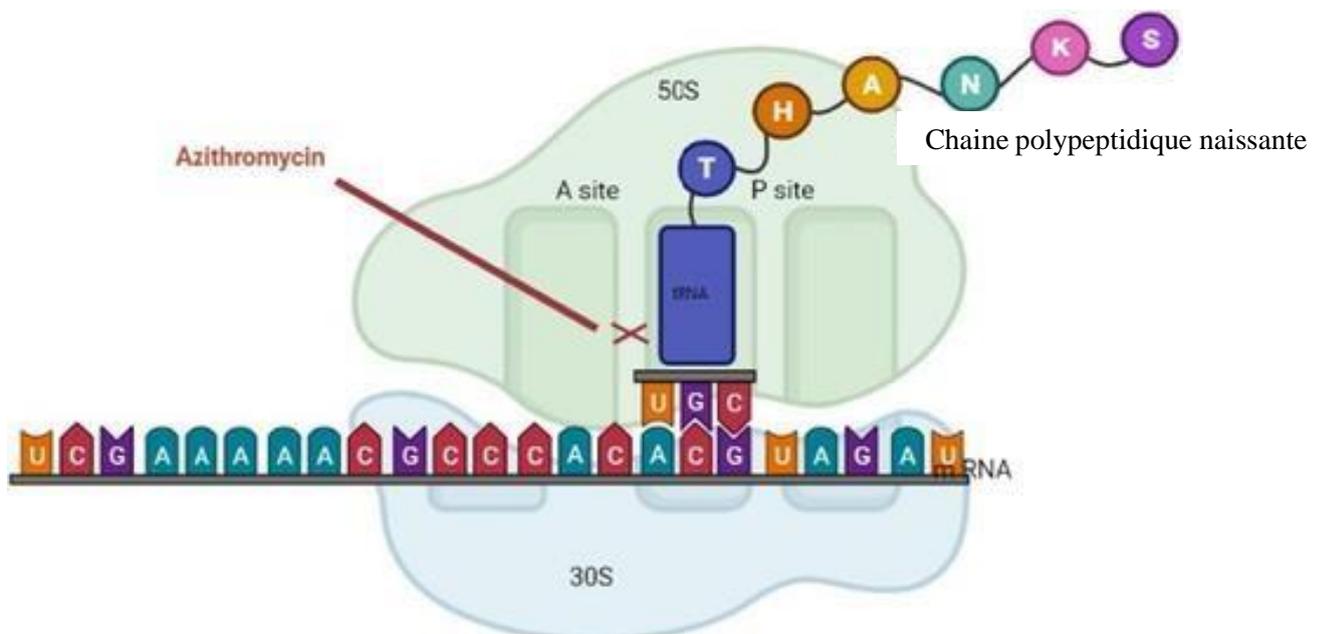


Figure 6 : Mécanisme d'action de l'azithromycine (macrolide) (Heidary et *al.*, 2022)

3.3.2. Inhibition du ribosome 30S :

Les aminosides (par exemple, streptomycine, kanamycine et gentamicine) interagissent avec l'ARNr 16S de la sous-unité 30S (figure 7). Ils entraînent des erreurs de lecture et l'arrêt prématuré de la traduction d'ARNm (Kapoor et *al.*, 2017).

Les tétracyclines agissent en bloquant l'accès des aminoacyl-ARNt au ribosome; cela perturbe la synthèse des protéines bactériennes (Kohanski et *al.*, 2010).

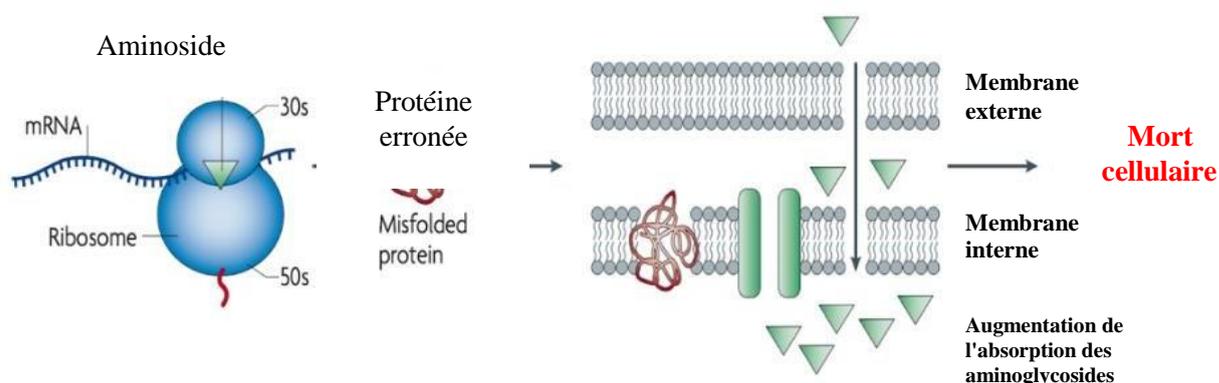


Figure 7 : Mécanisme d'action des aminosides (Kohanski et *al.*, 2010)

3.4. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques :

Les voies métaboliques menant à la synthèse des acides nucléiques sont si importantes qu'une perturbation de ces voies serait hostile à la survie et à la postérité des cellules bactériennes (Etebu et Arikekpar, 2016).

3.4.1. Inhibition de la réplication de l'ADN par les quinolones :

Les quinolones interfèrent avec la fonctionnalité de l'enzyme hélicase, perturbant ainsi l'enzyme de jouer sa fonction de déroulement de l'ADN. L'antibiotique finit par tronquer le processus de réplication et de réparation de l'ADN (Etebu et Arikekpar, 2016).

Ces antibiotiques ciblent aussi la topoisomérase II (ADN gyrase) et la topoisomérase IV composées de quatre sous-unités (deux A et deux B). L'ADN gyrase est la cible principale des bactéries à Gram-négatif, alors que la topoisomérase IV est plus affective chez les Gram-positif. Le mécanisme d'action des quinolones est basé sur l'ADN présenté sous forme de simple brin. Deux molécules de quinolone s'auto-assemblent pour former une structure dimérique à

l'intérieur de l'ADN, ils se lient au complexe gyrase par des forces électrostatiques, en piégeant ces enzymes au stade du clivage de l'ADN et empêchant le brin de rejoindre (Figure), entraînant des dommages irréversibles et la mort cellulaire (Kohanski et al., 2010 ; Dowling et al., 2017). Les fluoroquinolones sont utilisées en médecine humaine et vétérinaire et sont répertoriés comme « antimicrobiens d'importance critique » par l'OMS (Dowling et al., 2017).

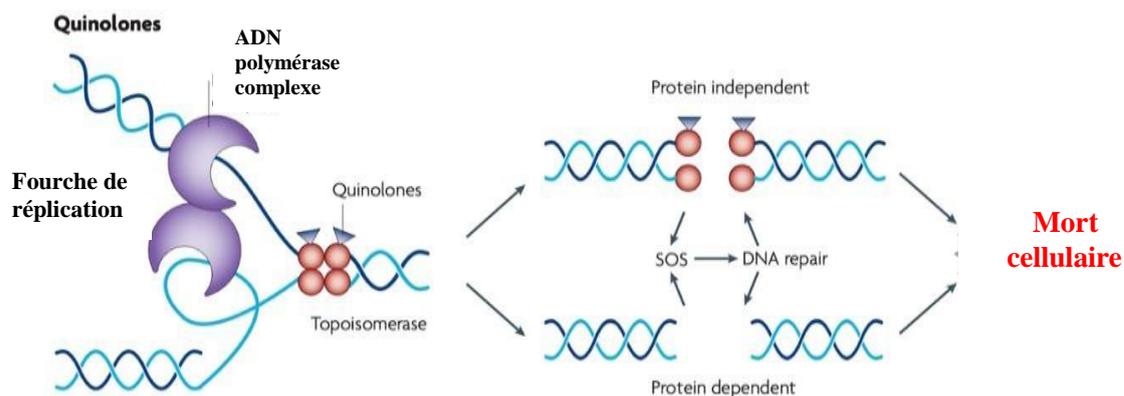


Figure 8 : Mécanisme d'action des quinolones (Kohanski et al., 2010)

3.4.2. Inhibition de la transcription d'ARN :

La rifampicine, dérivée de la famille des rifamycines et streptolydigine, bloque l'initiation de la transcription en se liant à la sous-unité β de l'ARN Polymérase (figure 9). La rifampicine est utilisée dans le traitement des infections causées par *Mycobacterium tuberculosis*. La bicyclomycine empêche la terminaison de la transcription. (Kirmusaoğlu et al., 2019).

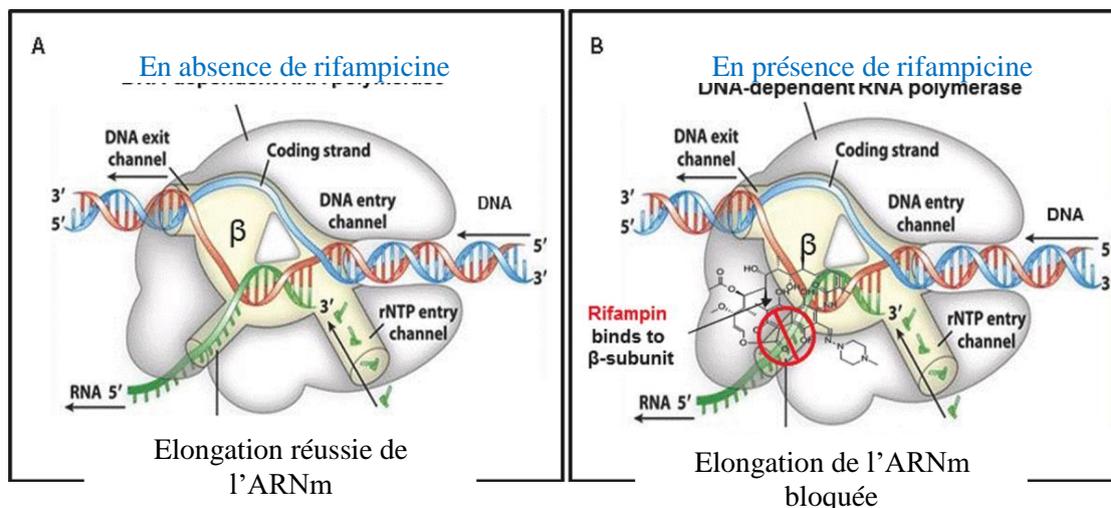


Figure 9 : Mécanisme d'action de la rifampicine (Cambau et Williams, 2019)

3.5. Inhibition de la fonction de la membrane cellulaire :

Les membranes cellulaires des micro-organismes à perméabilité sélective transportent activement des micro-macromolécules et des ions par l'intermédiaire des protéines de transport intégrales, ce qui contribue à l'acquisition d'énergie sous forme d'ATP. Lorsque la perméabilité sélective de la membrane est inhibée par des agents antimicrobiens, des ions sont perdus et le gradient ionique de la cellule est déformé, ce qui entraîne des dommages cellulaires et la mort de l'organisme (Kirmusaoglu *et al.*, 2019).

Les cibles des antimicrobiens (par exemple: La daptomycine, l'amphotéricine B, la colistine, les imidazoles et les triazoles) sont les étapes métaboliques de la synthèse des acides gras et des phospholipides membranaires. Dans le cas de la colistine (figure 10), elle se lie aux molécules anioniques des Lipopolysaccharides (LPS) en déplaçant le calcium et magnésium de la membrane cellulaire externe des bactéries Gram-négatives, entraînant des changements de perméabilité dans l'enveloppe cellulaire. En se liant à la partie lipidique A du LPS, la colistine a également une activité anti-endotoxine (Bialvaei *et al.*, 2015).

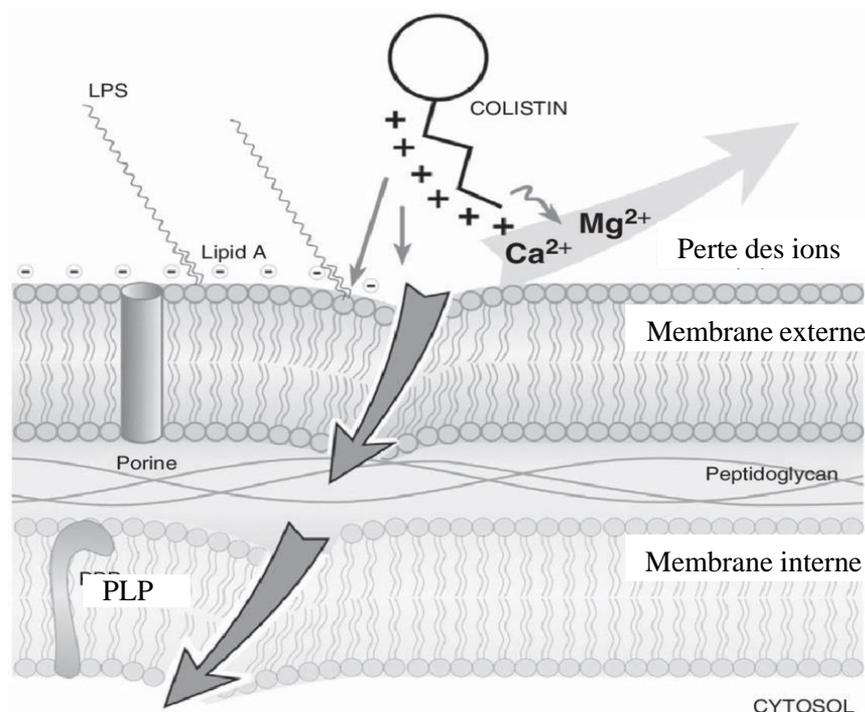


Figure 10 : Mécanisme d'action de la colistine (Bialvaei *et al.*, 2015).

CHAPITRE II

Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

Chapitre II

Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

1. Notion de résistance bactérienne aux antibiotiques :

La résistance bactérienne aux antibiotiques est définie comme étant la capacité des bactéries de survivre en présence de concentrations plus ou moins élevées d'antibiotiques, qui sont censées les tuer (effet bactéricide) ou à défaut d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique). Cette résistance peut être naturelle (intrinsèque) ou acquise (extrinsèque) (Mesaros et *al.*, 2005 ; Muylaert et Mainil, 2012).

1.1. Résistance intrinsèque :

C'est un phénomène naturel présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce (Harbottle et *al.*, 2006). Elle est d'origine chromosomique, stable et transmise à la descendance par transmission verticale (Carle, 2009). Plusieurs mécanismes y interviennent :

- Le manque d'affinité de l'antibiotique pour la cible bactérienne ;
- L'inaccessibilité de l'antibiotique à la cellule bactérienne ;
- L'expulsion de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques ;
- L'inactivation enzymatique de l'antibiotique (Muylaert et Mainil, 2012).

1.2. Résistance acquise :

C'est une résistance développée par certaines souches bactériennes préalablement sensibles, par l'acquisition de nouveaux gènes de résistance. Elle peut survenir de deux façons (Carle, 2009):

- **Par transfert vertical** : qui a lieu par mutation d'un gène qui peut entraîner une modification de structure ou une modulation d'expression de la molécule cible, ce gène sera ensuite répliqué lors de la division cellulaire et conservé par les deux cellules filles ;
- **Par transfert horizontal** : les gènes de résistances peuvent être transmis d'une bactérie à une autre par les mécanismes de transformation, conjugaison ou transduction (figure 11).

Il est à signaler que certaines résistances peuvent être résultat de l'association d'une mutation et d'un transfert horizontal de gènes (Muylaert et Mainil, 2012).

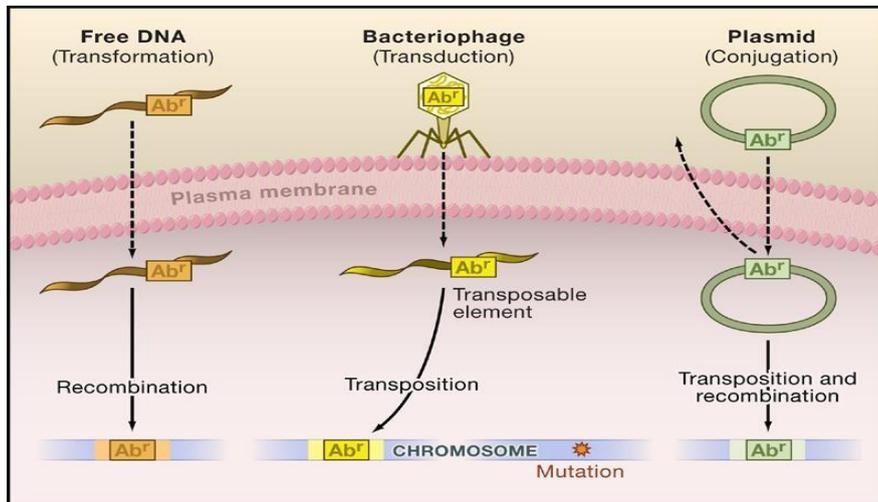


Figure 11 : Transfert horizontal de gènes de résistance entre les bactéries (Alekhshun et Levy, 2007).

2. Mécanismes biochimiques de résistances aux antibiotiques :

Les principaux de résistance connus actuellement sont les suivants (figure 12) :

- L'inactivation enzymatique ;
- Les pompes à efflux ;
- La modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique ;
- La protection de la cible de l'antibiotique ;
- L'imperméabilité de la membrane ;
- Le piégeage de l'antibiotique.

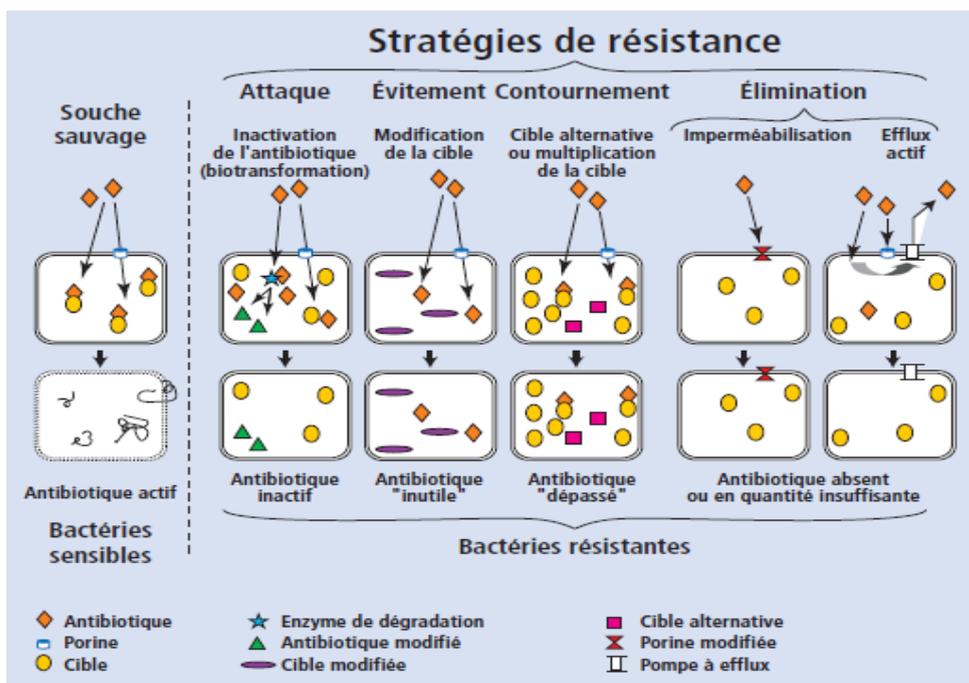


Figure 12 : Principales stratégie de la résistance bactérienne (Mesaros et al., 2005)

2.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

Des enzymes produites par les bactéries ont la capacité d'inactiver l'antibiotique en modifiant le noyau actif, par clivage ou par addition d'un groupement chimique (figure 13). L'empêchement donc de la fixation de l'antimicrobien sur sa cible provoque une perte d'activité. De nombreuses classes d'antibiotiques sont visées par ce mécanisme tels que les β -lactamines, les aminosides, les phénicolés, les tétracyclines, la fosfomycine, le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines) et récemment les fluoroquinolones (Muylaert et Mainil, 2012).

Les entérobactéries ont la capacité de produire ce type d'enzyme qui détruit les β -lactamines appelées « β -lactamases ». Ces enzymes inactivent les β -lactamines en détruisant le lien amide sur le cycle lactame (Vora et Auchenthaler, 2009).

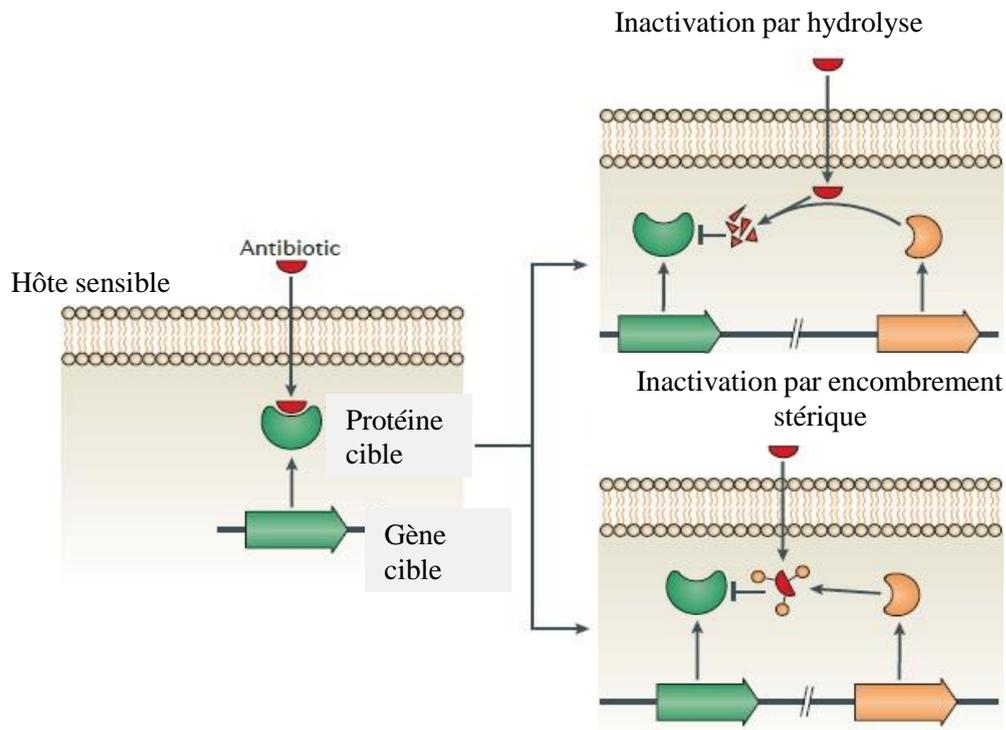


Figure 13 : Interaction directe enzyme-antibiotique (Blair et *al.*, 2014).

2.2. Pompes à efflux :

C'est un système actif qui se repose sur des mécanismes transmembranaire présents dans toutes les cellules eucaryotes ou procaryotes ; par des protéines particulières connues sous le terme de pompes à efflux qui servent à expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments (Muylaert et Mainil, 2012). Selon leur structure, le nombre de domaines transmembranaires, la source d'énergie utilisée, les substrats efflués ainsi que leurs capacité à s'associer à d'autres protéines, les pompes à efflux sont classées en six familles illustrées dans la figure 14 (Erika et *al.*, 2020):

- La superfamille des ABC (*Adenosine triphosphate-Binding Cassette*) ;
- La superfamille des MFS (*Major Facilitator Superfamily*) ;
- La famille des MATE (*Multidrug And Toxic compound Extrusion*) ;
- Les SMR (*Small Multidrug Resistance*) ;
- Les RND (*Resistance Nodulation cell Division*) ;
- Les PACE (*Proteobacterial Antimicrobial Compounds Efflux*).

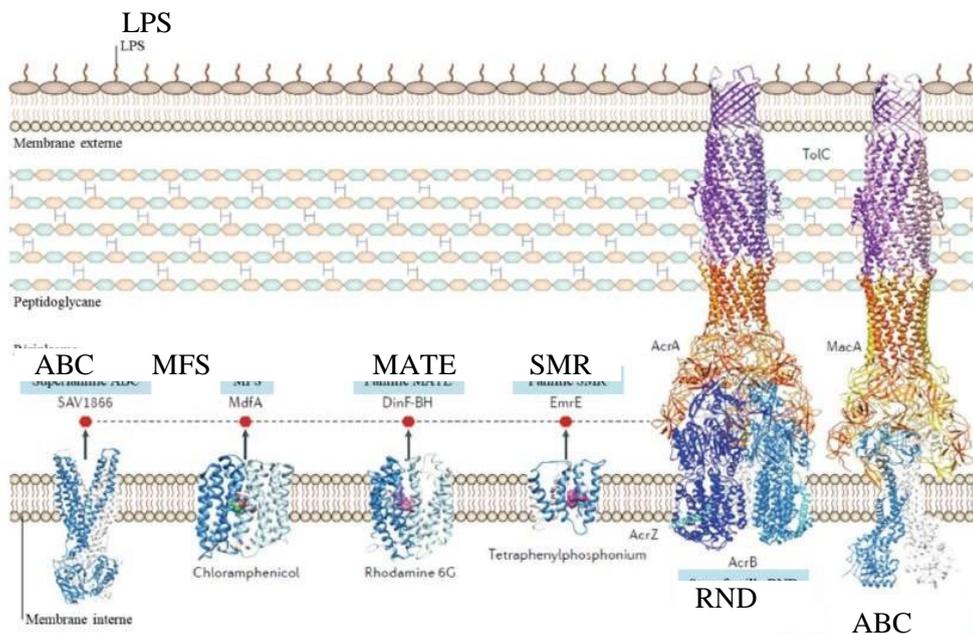


Figure 14 : Principales familles des pompes d'efflux (Erika et *al.*, 2020)

2.3. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique :

Ce mécanisme est en relation avec la modification structurale ou le remplacement de la cible ce qui entraîne une diminution de reconnaissance par l'antibiotique et une diminution de l'efficacité. Il est décrit pour presque tous les antibiotiques (Muylaert et Mainil, 2012).

Selon la famille d'antibiotique, on peut distinguer les mécanismes suivants (Carle, 2009 ; Munita et Arias , 2016):

- Altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) pour les β -lactamines
- Altération des sites de liaison ribosomaux pour les aminosides
- Altération de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase pour les quinolones
- Altération des précurseurs cibles de la paroi cellulaire bactérienne pour la vancomycine chez les entérocoques
- Altération des enzymes cibles pour les macrolides.

2.4. Protection de la cible de l'antibiotique :

Les gènes plasmidiques *qnr* (pour *quinolone resistance*) sont responsables de ce mécanisme de résistance et codent pour des protéines (*qnr*) qui se fixent sur les topoisomérases, cibles des fluoroquinolones, réduisant ainsi l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles (figure 15). Ce mode a été rapporté chez différentes bactéries à Gram négatif (Muylaert et Mainil, 2012).

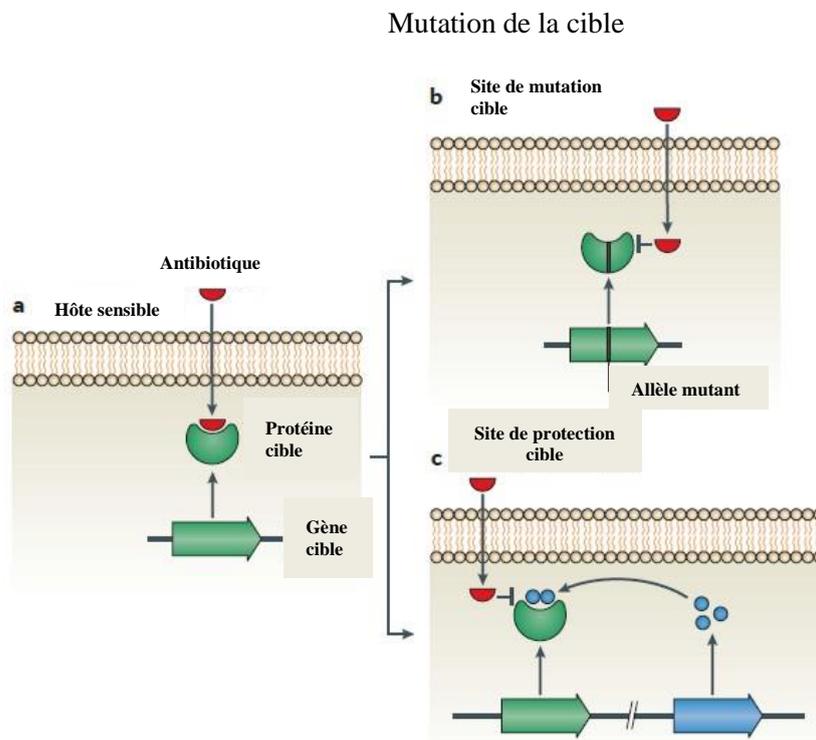


Figure 15 : Modification/protection de la cible (Blair et *al*, 2014).

2.5. Réduction de la perméabilité cellulaire :

Chez les bactéries à Gram positif, la structure enveloppante est simple composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycane que les antibiotiques traversent par simple diffusion. Cependant, les bactéries à Gram négatif sont munies d'une enveloppe additionnelle externe qui sert de barrière et protège les PLP du milieu externe (Carle, 2009)

Les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées « porines », alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique. De ce fait, ce type de résistance est à l'origine d'altération des porines par mutation. Il est cliniquement très important chez les bactéries Gram négatif (Muylaert et Mainil, 2012).

2.6. Piégeage de l'antibiotique :

Les bactéries ont la capacité de produire une autre molécule qui possède une affinité pour les antibiotiques ou d'augmenter la production de leur cible afin de les piéger (Muylaert et Mainil, 2012).

3. β -lactamases (BL) :

Il s'agit des enzymes prédominantes de la résistance aux β -lactamines chez les entérobactéries. Les β -lactamases hydrolysent de manière irréversible les antibiotiques appartenant aux différentes classes de β -lactamines, en ouvrant le cycle β -lactame via un intermédiaire acyl-enzyme instable et en perdant finalement le groupe carboxyle (figure 16), afin de protéger les bactéries qui produisent cette enzyme aux actions des antibiotiques (Ruppé, 2010; Ambler et al, 1991; Bush et Jacoby, 2009). La première enzyme à activité β -lactamase a été découverte chez *Bacillus coli* par Abraham et Chain en 1940 (Vrancianu, 2020).

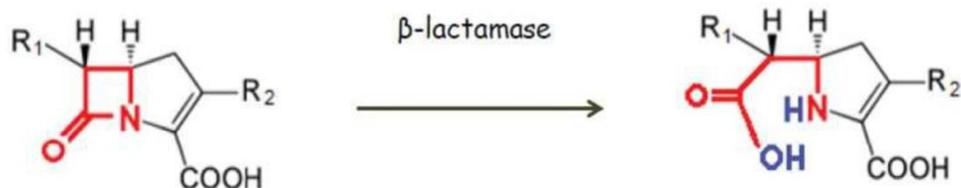


Figure 16 : Hydrolyse d'un β -lactamine par β -lactamase (Bou klallaba, 2018).

Deux systèmes de classification sont utilisés pour catégoriser les BL

- **Classification structurale** : les β -lactamases sont classées en quatre classes (A, B, C et D), selon les séquences d'acides aminés (figure 17). Pour les classes A, C, et D le site enzymatique actif contient la sérine (β -lactamases à sérine), alors que la classe B comprend les métallo-enzymes qui utilisent au moins un ion zinc du site actif pour faciliter l'hydrolyse du β -lactame (Ambler, 1980) ;

- **Classification fonctionnelle** : les β -lactamases sont divisées en trois groupes, en fonction du substrat β -lactame dégradé et des effets des inhibiteurs (Bush et Jacoby , 2009).

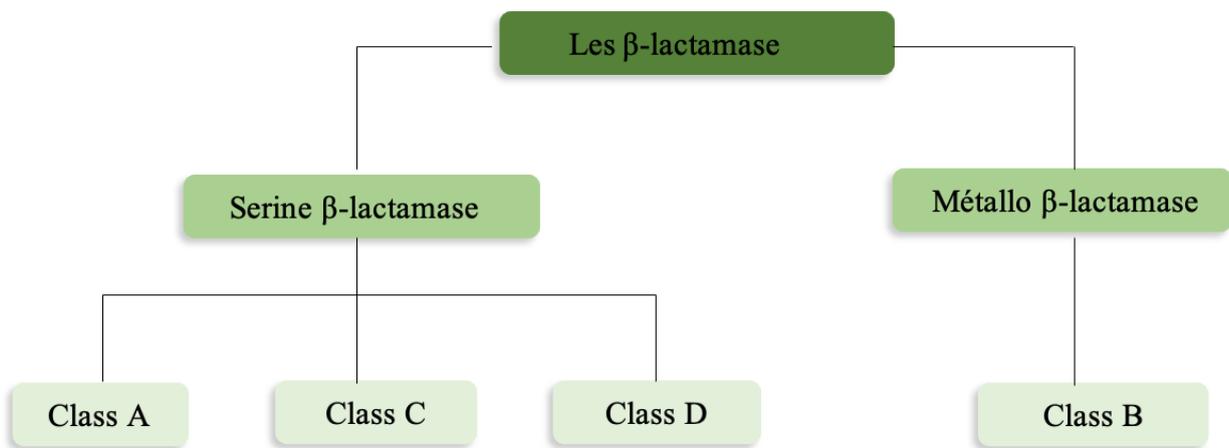


Figure 17 : Schéma de classification des β -lactamines selon Ambler

(adaptée de Bush et *al.*, 1995).

- **β -lactamases de groupe 1 (classe C d'Ambler) (également appelées enzymes AmpC)** : Ce groupe renferme les β -lactamases qui dégradent les pénicillines et les céphalosporines de 3^{ème} génération mais ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique. (Ghafourian et *al.*, 2015) ;

- **β -lactamases de groupe 2 (classe A et D d'Ambler)** : Les inhibiteurs de β -lactamase tels que l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam inhibent ce groupe d'enzymes. Elles pourraient hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines de 1ère, 2ème et 3ème générations ainsi que les monobactames (Livermore, 1995) ;

- **β -lactamases de groupe 3 (classe B d'Ambller) :** Ce sont des métallo-enzymes capables de détruire les carbapénèmes et ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ou le tazobactam. En revanche, ils sont inhibés par le métal chélateur tels que l'EDTA l'éthylène-diamine tétra-acétique. Ces enzymes sont fréquemment trouvés chez *P. aeruginosa*, *Bacteroides fragilis* et *Stenotrophomonas maltophilia* (Bush et Jacoby, 2009).

4. β -lactamases à spectre étendu (BLSE) :

4.1. Définition :

Ce sont des β -lactamases de classe A d'Ambller et de groupe 2 de Bush- Jacoby Medeiros. Elles sont définies en tant qu'enzymes produites par certaines bactéries en particulier les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* et capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines des 3 premières générations , les monobactames et inhibées par l'acide clavulanique. Cependant, les carbapénèmes et les céphamycines demeurent efficaces contre les souches productrices de BLSE (Bradford, 2001; Cattoir , 2008 ; Ghafourian et *al.*, 2015).

4.2. Classification des BLSE :

4.2.1. BLSE de type TEM :

Les BLSE de type TEM sont des variantes de la β -lactamase à médiation plasmidique originale « TEM-1 » publiée au début des années 1960. L'enzyme a été nommée ainsi parce qu'elle a été découverte à l'origine dans un isolat d'*E. coli* provenant d'une hémoculture d'un patient grec appelé Temoneira. (Castanheira et *al.*, 2022). Il existe actuellement plus de 100 β -lactamases de type TEM. Les BLSE de type TEM les plus courantes sont présentes chez *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Cependant, ils peuvent apparaître ailleurs chez d'autres bactéries à Gram-négatif (Livermore, 1995).

Des dérivés représentatifs de TEM-1/2: TEM-3, TEM-4, TEM-24 et TEM-52 sont le résultat de mutations dans quatre hot spots de l'enzyme (résidus 104, 164, 238 et 240 selon la numération d'Ambller) et sont responsables de l'élargissement ou l'extension du spectre (Philippon, 2013). La figure ci-dessous (figure 18) montre la majorité des BLSE de ce type, dérivé à partir de mutations ponctuelles des enzymes ancestrales (TEM-1 ou TEM-2).

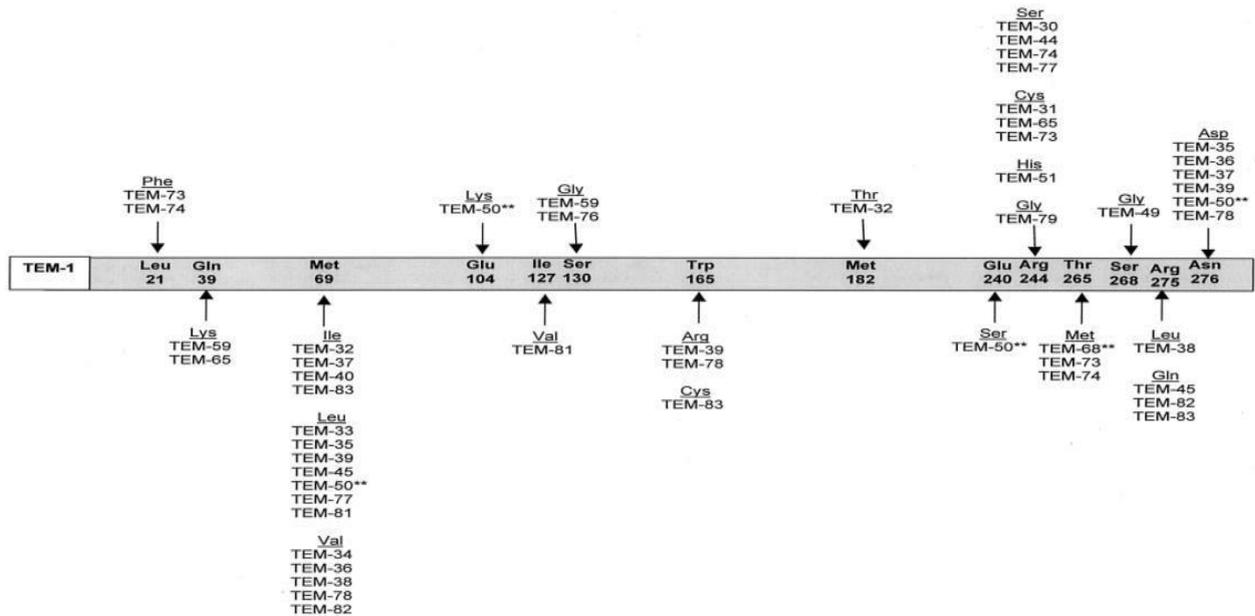


Figure 18 : Substitutions d'acides aminés dans les dérivés BLSE de type TEM (Bradford, 2001).

4.2.2. BLSE de type SHV :

Les β -lactamases de type SHV (pour variable de réactif sulfhydryle) sont à l'origine des enzymes codées chromosomiquement dans *K. pneumoniae*. La première BLSE signalée en 1985 était SHV-2 trouvée dans une souche de *Klebsiella ozaenae* isolée en Allemagne. Elle différait du SHV-1 par une seule substitution d'acide aminé de Gly par Ser en position 238 (figure 19). Semblable à ce qui est observé dans les BLSE de type TEM, la majorité des BLSE de type SHV présentent des mutations aux positions d'Ambler 238 (Gly à Ser) et 240 (Lys à Glu). Les BLSE de type SHV sont le plus souvent retrouvées dans des isolats cliniques (Castanheira et *al.*, 2022). Le résidu sérine en position 238 est important pour l'hydrolyse efficace de la ceftazidime et le résidu lysine est critique pour l'hydrolyse efficace du céfotaxime (Bradford, 2001).

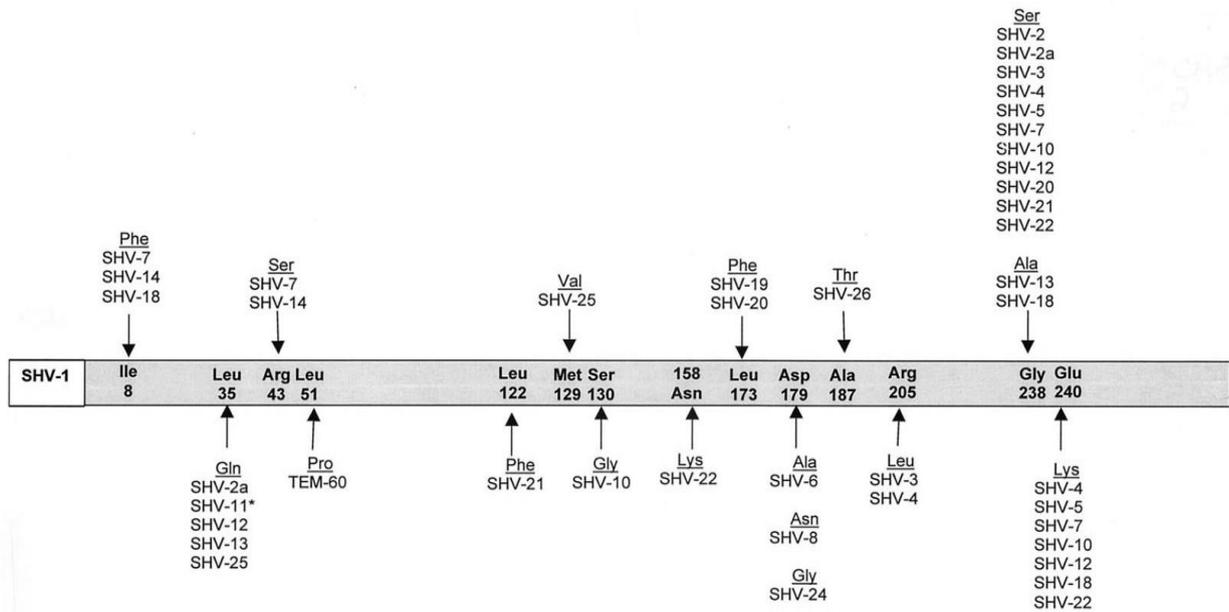


Figure 19 : Substitutions d'acides aminés dans les dérivés BLSE de type SHV (Bradford, 2001)

4.2.3. BLSE de type CTX-M :

Nommées CTX-M pour « céfotaximase-Munich », la première détection de ces enzymes remonte à 1980 en Allemagne. Cependant, les enzymes de type CTX-M identifiées dans d'autres régions ont reçu des noms différents tels que ; FEC-1 (au Japon), Toho-1 (au Japon) et MEN-1 (en France chez un patient italien). Les BLSE de type CTX-M peuvent être regroupées en cinq groupes en fonction on homologies de séquence (figure 20) : CTX-M-1, CTX-M-2 (les gènes appartenait à *Kluyvera* spp.), CTX-M-8, CTX-M-9 (les gènes appartenait à *Kluyvera georgiana*) et CTX-M-25 (D'Andrea et al., 2013 ; Castanheira et al., 2022).

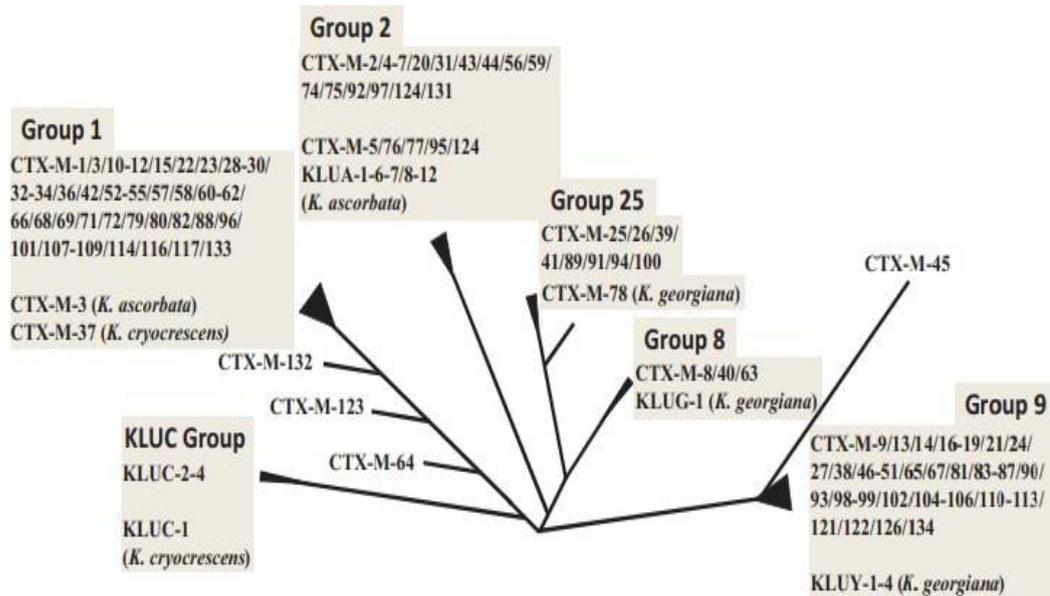


Figure 20 : Diagramme en arbre montrant les différents clusters des enzymes CTX-M (Andrea et al., 2013).

4.2.4. BLSE de type OXA :

Les β -lactamases de type OXA hydrolysent les pénicillines, les céphalosporines, les céphèmes et les monobactames chez quelque variantes. Selon une revue récente, il existe 27 enzymes oxacillinases (Castanheira et al., 2022). En outre, elles sont à peine inhibées par l'acide clavulanique (Bradford, 2001).

Les β -lactamases de type OXA constituent une famille phylogénétiquement très hétérogène, très répandue chez *Pseudomonas aeruginosa*. Elle a été détectée pour la première fois en Turquie en 1991, puis signalée en France, au Taïwan, en Corée et aux Etats-Unis (Cattoir, 2001).

5. Prévalence et diversité des entérobactéries productrices de BLSE dans les hôpitaux algériens

En Algérie, la première BLSE de type CTX-M a été identifiée en 2005 chez des entérobactéries isolées à l'hôpital de Bejaïa (Zaket et al., 2013). Le tableau ci-dessous récapitule 21 études réalisées en Algérie ENTRE 2006 et 2022, portant sur la détection des entérobactéries productrices de BLSE en milieu hospitalier.

Tableau 2 : La détection des entérobactéries productrices de BLSE en milieu hospitalier .

Type de BLSE	Espèce concernée	Nature du prélèvement	Année d'étude	Lieu	Prévalences	Références
CTX-M-3 CTX-M-15	- <i>Escherichia coli</i>	Sang ,plaie , liquide d'ascite , urine	2005	Alger	16/279 (5.7%)	(Ramdani et al.,2006)
CTX-M	- <i>Enterobacter cloacae</i> - <i>Acinetobacter baumannii</i>	Urines	2007	Bejaïa	2/2 (100%)	(Touati et al., 2006)
CTX-M-3 CTX-M-15 SHV-12 VEB-1	- <i>Enterobacter cloacae</i>	Urines, sang, pus	2003-2007	Alger Tizi Ouzou Tlemcen	25/141 (17.7%)	(Iabadene et al., 2008)
CTX-M-3 CTX-M-15	- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Urines, sang, pus, liquide bronchiale, liquide d'ascite	2008	Alger	39/196 (19.9%)	(Messai et al., 2008)
CTX-M-14	- <i>Salmonella enterica</i>	Selles	2007	Draa el mizan	1/1 (100%)	(Iabadene et al ., 2009)
CTX-M1 CTX-M2 CTX-M8 CTX-M9 TEM SHV	- <i>Escherichia coli</i> <i>Entrobacter cloacae</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Proteus morabilis</i> <i>Proteus vulgaris.</i>	Urines, sang, pus, liquide bronchiale, liquide d'ascite	2009	Annaba	6/25 (24%)	(Meradi et al., 2011)

PER-1	- <i>Providencia stuartii</i> - <i>Proteus vulgaris</i>	Urines, sang	2007	Alger	5/5 (100%)	(Iabadene et al., 2009)
TEM-1 CTX-M-15 SHV-12 SHV-28 SHV-133 SHV-11 SHV-32	- <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Enterobacter cloacae</i> - <i>Escherichia coli</i> - <i>Serratia marcescens</i>	Hémoculture	2010-2011	Annaba	39/42 (92,9%)	(Labid et al., 2014)
CTX-M-1 TEM SHV	- <i>Klebsiella</i> spp. - <i>Enterobacter</i> spp. - <i>Serratia marcescens</i> .	Urine, pus, liquide pleural, Prélèvement distal protégé, liquide tumoral	2009	Annaba	65/207 (31.4%)	(Nedjai et al., 2012)
CTX-M-15, TEM-1, PER-2, SHVa2	- <i>Serratia marcescens</i>	Urine, pus	2011-2013	Constantine	35/54 (61.8%)	(Batah et al., 2015)
CTX-M-15	- <i>Enterobacteriaceae</i>	Urine, surfaces	2008	Tlemcen	11/28 (39.3%)	(Baba Ahmed et al., 2012)
CTX-M-15 CTX-M-3	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Enterobacter Cloacae</i> .	Echantillons cliniques	2008-2010	Tlemcen	71/71 (100%)	(Baba Ahmed et al., 2013)

CTX-M-15	- <i>Enterobacteriaceae</i>	Hémoculture	2008-2010	Alger	31/31 (100%)	(Touati et <i>al.</i> ,2012)
CTX-M-15 CTX-M-14 CTX-M-3	- <i>Klebsiella Oxytoca</i> - <i>Escherichia coli</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Enterobacter Cloacae.</i> - <i>Citrobacter braakii</i>	Prélèvement rectal.	2012-2013	Alger	93/171 (54%)	(Medboua- Benbalagh et <i>al.</i> , 2017)
CTX-M SHV	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Enterobacter Cloacae.</i>	Surface hôpital	2014	Guelma	7/300 (2.3%)	(Bouguenounet et <i>al.</i> , 2016)
CTX-M-15 TEM	- <i>Klebsiella oxytoca</i> - <i>Citrobacter freundii</i> - <i>Enterobacter Cloacae.</i> - <i>Citrobacter amalonaticus</i>	Blattes germaniques collectés à l'hôpital	2015	Batna	11/12	(Loucif et <i>al.</i> , 2016)
CTX-M-14 CTX-M-15	- <i>Enterobacteriaceae</i>	Urines	2015-2017	Sétif	37/215 (17.2%)	(Nabti et <i>al.</i> , 2019)
Non déterminé	<i>Enterobacteriaceae</i>	Urines	2017	Tebessa	7/195 (3.6%)	(Benhadj et <i>al.</i> , 2019)

CTX-M TEM SHV	<i>-Proteus mirabilis</i>	Urine, pertes vaginales et pus	2016	Khemis Melaina, Ain Defla, Oran , Chlef	4/166 (2,1%)	(Boudjemaa et <i>al.</i> , 2019)
BLSE	<i>Pantoea,</i> <i>Klebsiella, Escherichia coli ,</i> <i>Enterobacter, Serratia,</i> <i>Proteus, Citrobacter,</i> <i>Raoultella.</i>	Hémoculture, urines, pus, plaie, aspiration trachéale	2018-2019	Tebessa	62/226 (27.1%)	(Mechai et <i>al.</i> , 2020)
CTX-M-14 CTX-M-15	<i>-Escherichia coli</i> <i>-Klebsiella pneumoniae</i>	Prélèvement rectal	2019	Bejaia	6/42 (14.3%)	(Touati et <i>al.</i> ,2020)

CHAPITRE III

Matériel & méthodes

Chapitre III Matériel et méthodes

1. Origine et collecte des souches bactériennes :

La présente étude porte sur un total de 46 souches d'entérobactéries isolées de prélèvements cliniques (une souche par prélèvement): urines, pus, selles, cathéter, hémoculture, prélèvements génitaux, prélèvements respiratoires et liquide céphalo-rachidien (LCR), durant la période allant du 16 février au 14 juillet 2022. Les prélèvements proviennent majoritairement de patients externes ou hospitalisés dans les différents services de l'établissement public hospitalier EPH Mouhad Abdelkader (Djelfa) (40 prélèvements, soit 86.9%) ainsi que des deux laboratoires d'analyses médicales Homaida (4 prélèvements, soit 8.7%) et Meddah Abdelaziz (2 prélèvements ; soit 4.3%). Ils sont reçus aux laboratoires accompagnés d'une ordonnance qui comporte les renseignements nécessaires du patient : nom, prénom, âge, sexe, date et nature du prélèvement et le service d'hospitalisation (figure 21 et tableau 3).

Les différentes souches collectées sont ensuite codées et conservées dans des tubes contenant de la gélose profonde pour être transportées au laboratoire de Microbiologie de la faculté SNV de l'université Ziane Achour de Djelfa pour des fins analytiques.



Figure 21 : Différents types de prélèvements reçus au laboratoire (Photo originale, 2022)

Tableau 3 : Origine et répartition des différentes souches bactériennes collectées.

	Code de la souche	Nature du Prélèvement	Date de prélèvement	Sexe du patient	Age du patient	Labo/Service
1	130	ECBU	16/02/2022	F	Adulte	EPH
2	142	ECBU	21/02/2022	F	Adulte	EPH
3	143	ECBU	21/02/2022	H	Adulte	UMC
4	144	ECBU	21/02/2022	F	Adulte	EPH
5	152	ECBU	22/02/2022	H	Adulte	Réanimation
6	154	ECBU	22/02/2022	H	Adulte	EPH
7	172	Pus	27/02/2022	H	Adulte	EPH
8	192	ECBU	06/03/2022	F	Adulte	UMC
9	196	Pus	06/03/2022	H	Adulte	EPH
10	223	ECBU	14/03/2022	F	Adulte	EPH
11	241	ECBU	20/03/2022	F	Enfant	PED
12	248	Liquide pleural	21/03/2022	F	Adulte	PH
13	264	Collection intra péritonite	27/03/2022	H	Adulte	UMC
14	267a	Pus	27/03/2022	H	Enfant	CHH
15	267b					
16	271	Hémoculture	28/03/2022	F	Adulte	EPH
17	287	Abcès de la marge anale	06/04/2022	H	Adulte	CHH
18	292	Hémoculture	10/04/2022	H	Adulte	Réanimation
19	302	Sonde vésicale	11/04/2022	H	Adulte	Réanimation
20	440	ECBU	12/04/2022	F	Adulte	EPH
21	866	ECBU	17/04/2022	F	Nouveau-né	EPH
22	324	LCR	19/04/2022	F	Enfant	PED
23	327	ECBU	20/04/2022	F	Adulte	EPH
24	356	Pus	09/05/2022	F	Adulte	PH
25	360	ECBU	09/05/2022	F	Adulte	EPH

Tableau 3 (suite)

	Code de la souche	Nature du prélèvement	Date de prélèvement	Sexe du patient	Age du patient	Labo/Service
26	367	ECBU	10/05/2022	H	Adulte	EPH
27	400	ECBU	22/05/2022	H	Adulte	EPH
28	410	Pus	24/05/2022	H	Enfant	EPH
29	430	Pus	31/05/2022	F	Adulte	MF
30	449	PDP	07/06/2022	H	Adulte	EPH
31	445	ECBU	07/06/2022	H	Adulte	EPH
32	456	Sepsis sur matériel	09/06/2022	F	Adulte	UMC
33	461	ECBU	12/06/2022	F	Adulte	EPH.
34	494	Abcès appendiculaire	19/06/2022	F	Adulte	CHF
35	496	ECBU	20/06/2022	F	Enfant	PED
36	501a	Pus	20/06/2022	H	Adulte	UMC
37	501b					
38	506	ECBU	21/06/2022	F	Enfant	PED
39	527	Plaie	27/06/2022	H	Adulte	CHH
40	537	Abcès	28/06/2022	H	Adulte	EPH
41	1700	ECBU	03/07/2022	F	Enfant	PED
42	1728	ECBU	03/07/2022	H	Adulte	HO
43	1822	ECBU	03/07/2022	F	Adulte	HO
44	1753	ECBU	10/07/2022	F	Adulte	HO
45	3	ECBU	10/07/2022	F	Adulte	MED
46	9	ECBU	10/07/2022	F	Adulte	MED

EPH : établissement public hospitalier ; **PED** : service de pédiatrie ; **CHH** : chirurgie homme ; **CHF** : chirurgie femme ; **UMC** : Urgences Médico-Chirurgicales ; **PH** : Pneumo-Phtisiologie ; **MF** : Mère et Enfant ; **HO** : Laboratoire Homaida ; **MED** : Laboratoire Meddah ; **F** : Femme ; **H** : Homme

2. Méthodes :

2.1. Repiquage des souches collectées :

Dans le but de s'assurer de la pureté des souches collectées, des repiquages successifs à l'aide de l'anse de platine sont réalisés par la méthode des quadrants qui consiste à disperser le micro-organisme à la surface d'un milieu solide afin d'obtenir des colonies séparées. Deux milieux de culture sélectifs sont utilisés : l'Hektoen et le MacConkey (figure 22).

L'incubation des boîtes est faite à 37°C pendant 24h. La culture bactérienne est considérée comme étant « pure » si un seul type de colonies est observé sur la totalité de la gélose ensemencée.

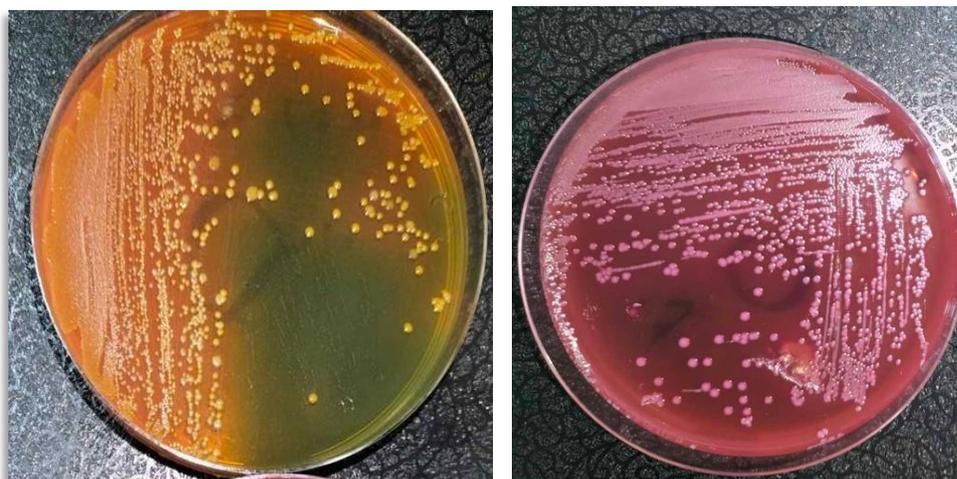


Figure 22 : Repiquage des souches sur milieu Hektoen et milieu MacConkey par la méthode desquadrants (Photos originales, 2022)

2.2. Identification des souches collectées :

2.2.1. Étude macroscopique des colonies :

Elle permet de décrire, à l'œil nu, l'aspect des différentes colonies poussées sur la boîte Pétri ensemencée, selon les caractères suivants : couleur, taille, forme, contour, bombage, relief, brillance et opacité. La figure ci-après illustre l'aspect de 4 différentes espèces d'entérobactéries.

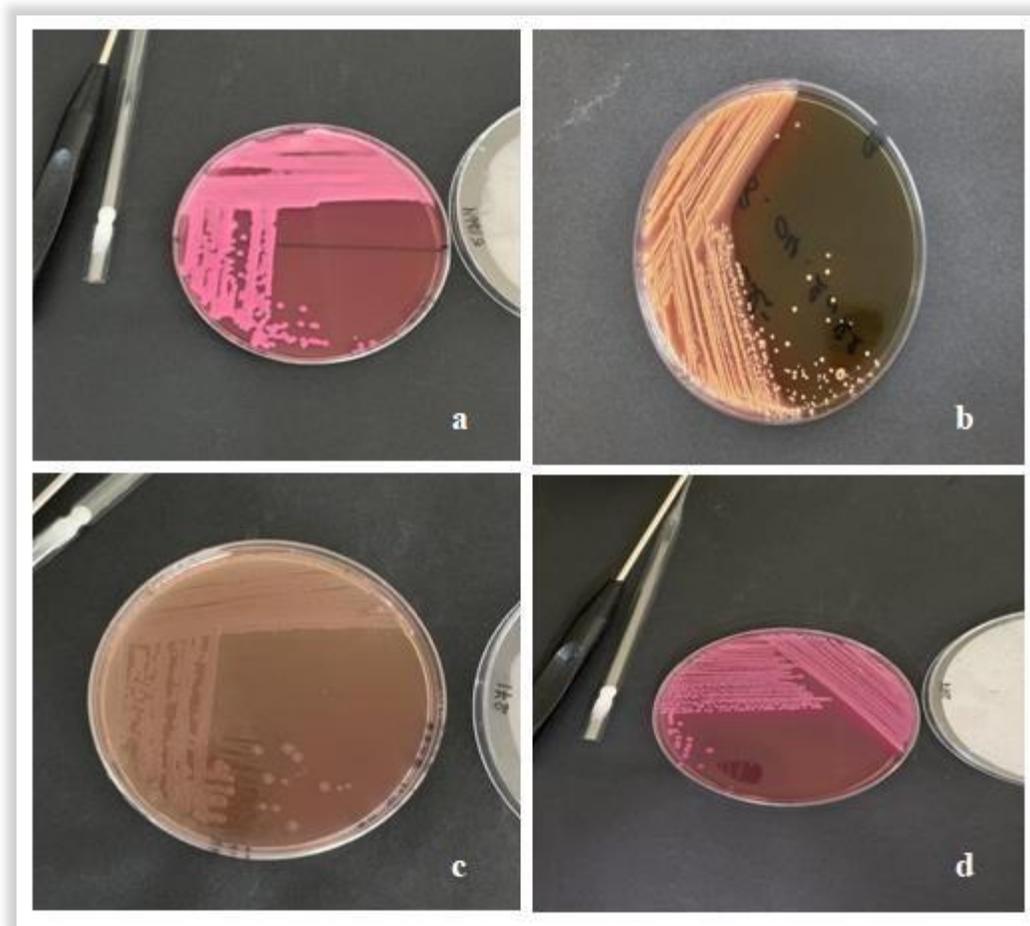


Figure 23 : Aspect des colonies des souches **a** : *Klebsiella oxytoca* sur MacConkey, **b** : *E.coli* sur Hektoen , **c** : *Proteus mirabilis* , **d** : *E.coli* sur MacConkey (Photos originales, 2022)

2.2.2. Étude microscopique par coloration de Gram :

Après observation à l'état frais, une coloration de Gram est réalisée. Il s'agit d'une coloration différentielle publiée par Hans Christian Gram en 1884. Elle permet de différencier les bactéries selon 2 critères principaux : leur mode de regroupement (paires, tétrades, groupes, chaînes, lancettes... etc.) et leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram positif) ou la fuschine (Gram négatif). Comme illustré dans la figure suivante, les entérobactéries sont à Gram négatif et apparaissent sous microscope colorées en rose.

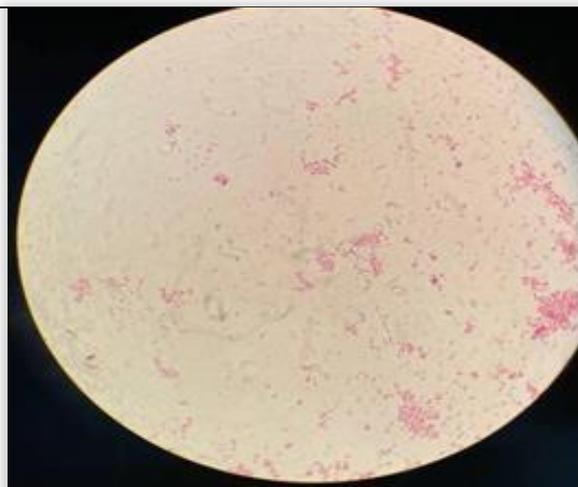


Figure 24 : Coloration de Gram d'une entérobactérie sous microscope optique (G x100)
(Photo originale, 2022).

2.2.3. Identification biochimique des souches d'entérobactéries :

2.2.3.1. Galerie biochimique classique :

La recherche des principaux caractères biochimiques et métaboliques est illustrée dans le tableau suivants :

Tableau 4 : Tests biochimiques réalisés.

Propriétés	Test/Milieux de culture	Principe	Ensemencement	Incubation	Lecture
Attaque des glucides	TSI: Triple Sugar Iron	-Fermentation ; glucose, lactose, saccharose -Production de gaz ; -Formation d'H ₂ S	Piqûre centrale profonde ; -Stries sur la pente	à 37°C pendant 24 heures	1. Virage au jaune (sucres+); 2.Fissure (gaz+); 3.Noircissement (H ₂ S+).

Tableau 4 (suite)

Recherche de la β -galactosidase	ONPG	L'ONPG est un substrat artificiel analogue au lactose. Lors de l'hydrolyse par l'action de l'enzyme β -galactosidase, l'ONPG se scinde en deux résidus, le galactose et l'o-nitrophénol. L'ONPG est un composé incolore : l'O-nitrophénol est jaune, fournissant une preuve visuelle de l'hydrolyse (présence de l'enzyme).	Un disque ONPG est ajouté à la suspension bactérienne	à 37°C pendant 24 heures	Virage au jaune (β -D-galactosidase +)
Détermination du type fermentaire	RM (<u>R</u> ouge de <u>m</u> éthyle) « bouillon Clark et Lubs » VP (<u>V</u> osges - <u>P</u> roskauer) « bouillon Clark et Lubs »	La fermentation acide mixte par acidification d'un milieu glucosé après fermentation du glucose La production d'acétoïne (ou 3-hydroxybutanone) au cours de la fermentation butylène glycolique	On ajoute quelques gouttes d'une suspension bactérienne dans le milieu Clark et Lubs	à 37°C pendant 24 heures Ajout des réactifs : -RM -VP1, VP2	Virage au rose (RM+) «fermentations acides mixtes » Virage au rouge (VP+) «fermentations butanedioïque»
Recherche des décarboxylases (LDC, ODC, ADH)	-La <u>L</u> ysine <u>d</u> écarboxylase (LDC) -L' <u>O</u> rnithine <u>d</u> écarboxylase ODC) -L' <u>A</u> rginine <u>d</u> ihydrolase (ADH)	Les décarboxylases scindent les acides aminés en entraînant la formation de l'amine correspondante avec la libération de CO ₂ -Lysine +LDC= Cadavérine + CO ₂ -Ornithine +ODC= Putrécine + CO ₂	On ensemence les trois milieux Moeller par la suspension bactérienne à tester	à 37°C pendant 24 heures	Comparais-on avec le témoin : virage au violet (décarboxylase +).

	« Bouillon Moeller »	-Arginine +ADH= Agmatine + CO ₂			
Recherche de la production d'indole	Bouillon eau peptonée	Déterminer la capacité d'une souche à produire de l'indole par l'enzyme tryptophanase	On ensemence l'eau peptonée par la suspension bactérienne à tester	à 44 °C pendant 24 heures	Apparition d'un anneau rouge après ajout du réactif Kovacs (indole +)
Recherche de la mobilité, utilisation du mannitol	Un milieu gélosé semi solide Mannitol-mobilité	Pour étudier de la fermentation du mannitol ainsi que la mobilité de la souche	Par piqûre centrale profonde	à 37°C pendant 24 heures	Virage au jaune (mannitol +) ; -Création de trouble (mobilité +).
Utilisation des substrats énergétiques	Milieu gélosé Citrate de Simmons en tube	Tester la capacité de la souche à utiliser le citrate comme seule source de carbone	Sur la pente	à 37°C pendant 24 heures	Virage au bleu (citrate +).

Adapté de Fritz et *al* , 2014.



Figure 25 : Tests biochimiques réalisés ; **a** : TSI , **b** :ONPG , **c** : Clark et Lubs , **d** : LDC,ODC et ADH , **e** :Indole , **f** : Citrate de Simmons , **i** : Mannitol – mobilité (Photos originales, 2022).

2.2.3.2. Galerie API 20 E (analytical profile index) :

a. Principe :

Il s'agit d'un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif. Il comporte 20 tests biochimiques miniaturisés qui permettent de détecter généralement une activité enzymatique liée principalement à la fermentation des glucides ou au catabolisme des protéines ou des acides aminés par les suspensions bactériennes inoculées. Dans l'API 20E, la bande de plastique contient 20 microtubes (puits) de test contenant des milieux déshydratés ayant des compositions chimiquement définies pour chaque test. Une suspension bactérienne est utilisée pour réhydrater chacun des puits et les bandelettes sont incubées. Pendant l'incubation, le métabolisme bactérien produit des changements de couleur qui sont soit spontanés, soit révélés par l'ajout de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.



Figure 26 : Présentation de la galerie API 20E (Photo originale, 2022).

b. Mode opératoire :

- Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
- Sortir la galerie de son emballage ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ;
- Prélever des colonies sur le milieu TSI, en utilisant des cultures jeunes de 18-24 h à l'aide d'une pipette Pasteur ;
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

- Inoculation de la galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;

- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule;

- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules);

- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et URE, créer une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de vaseline.

- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures (figure 27).



Figure 27 : Inoculation de la galerie API20E (Photo originale, 2022)

- Lecture de la galerie :

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture après addition des réactifs suivants (figure 28) :

- ❖ Une goutte de réactif TDA au test TDA ;
- ❖ Une goutte de réactif Kovacs au test IND ;
- ❖ Une goutte de réactif VP1 et VP2, et attendre au minimum 10 mn, au test VP.



Figure 28 : Lecture de la galerie API 20E (Photos originales, 2022).

- Interprétation de la galerie :

L'identification est obtenue à partir du profil numérique qui est déterminé sur la fiche de résultats (figure 29). Les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres.

La réaction d'oxydase, qui constitue le 21^{ème} test, est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive. Alors l'identification est faite à l'aide de :

- ✓ Catalogue analytique, en recherchant le profil numérique dans la liste des profils ;
- ✓ Logiciel d'identification en ligne « <https://lab.upbm.org/> » en entrant manuellement le résultats de chaque test ou le profil à 7 chiffres (figure 30).

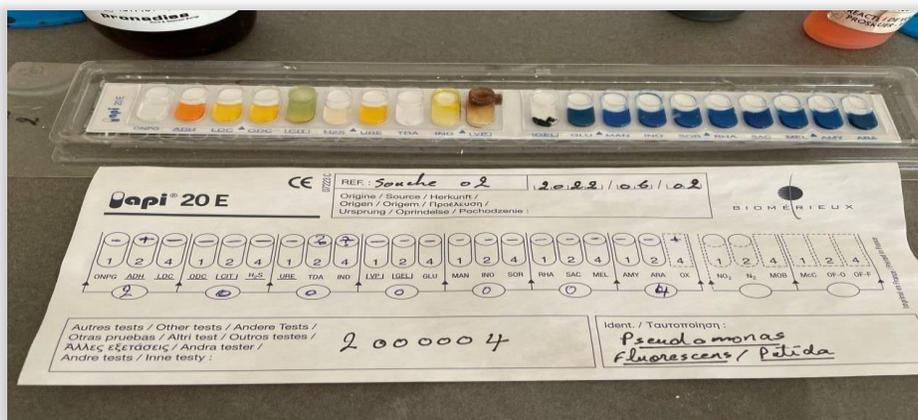
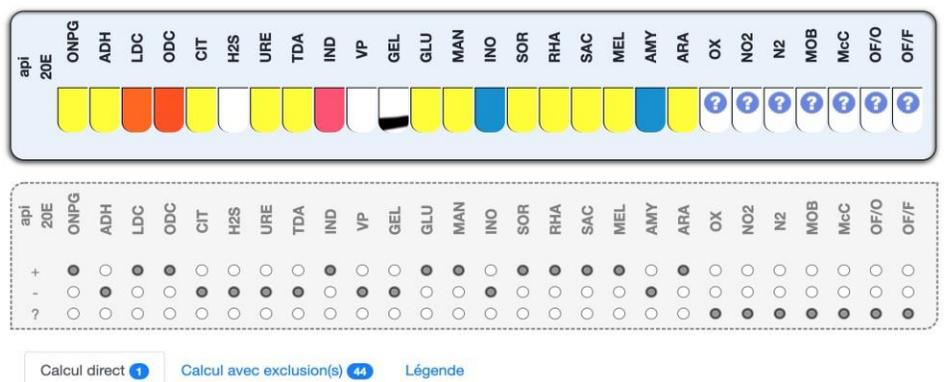


Figure 29 : Réalisation du profil numérique (Photo originale, 2022).



Les calculs proposent (cliquez sur **Q** pour voir les détails du profil) :

- Escherichia coli 1** **Q** avec une probabilité de 99.8 % (excellente identification)

99.8%

Les taxons ayant une probabilité trop faible (< 5%) sont éliminés.

Figure 30 : Identification sur « <https://lab.upbm.org/> »

2.3. Étude de la sensibilisation aux antibiotiques :

La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques (figure 31) sur milieu solide (MH), selon les recommandations de CLSI, 2018.

- Principe :

La méthode de diffusion, ou antibiogramme standard, est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme, si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture.

Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. Les antibiotiques utilisés sont résumés sur le tableau 5 .



Figure 31 : Disques d'antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme (Photo originale, 2022)

Tableau 5 : Antibiotiques testés dans l'antibiogramme.

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques testées	Sigle	Charge du disque (µg)	Marque
β- lactamines	Amoxicilline/ acide clavulanique	AMC*	20/10	Himedia, Inde
	Céfotaxime	CTX*	30	Bio-rad, France
	Ceftazidime	CAZ*	30	Bioanalyse, France
	Céfazoline	CZ	30	Himedia, Inde
	Imipénème	IMI	10	Bioanalyse, France
	Céfépime	FEP	30	Bioanalyse, France
Phénicolés	Chloramphénicol	C	30	Bioanalyse, France
Quinolones	Ciprofloxacine	CIP	5	Himedia, Inde
Acides phosphoniques	Fosfomycine	FO	200	Himedia, Inde
Aminosides	Gentamicine	GEN	10	Himedia, Inde
	Tobramycine	TOB	10	Bioanalyse, France
Sulfamides	Cotrimoxazole	COT	5	Bioanalyse, France

* : Antibiotiques utilisés pour la détection des BLSE.

a- Inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 heures sur GN, on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et on décharge l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;
- On homogénéise la suspension bactérienne, à l'aide d'un agitateur ;
- L'inoculum peut être ajusté, en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

b- Ensemencement :

- On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- On l'essore en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum;
- On frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées et on répète l'opération trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même ;
- On finit l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (2 fois) ;
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut changer l'écouvillon à chaque fois.

c- Application des disques d'antibiotiques :

- Un maximum de 6 disques d'antibiotiques sont déposés sur une boîte de 90 mm de diamètre ;
- Les disques d'antibiotiques sont espacés de 25 mm, centre à centre ;
- On presse chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application (figure 32) ;
- Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.



Figure 32 : Application des disques d'antibiotiques sur milieu MH ensemencé (Photos originales, 2022)

d-Incubation :

Après diffusion de 30 minutes, l'incubation des boîtes se fait pendant 18 heures à 37°C.

e-Lecture :

- On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse, à l'extérieur de la boîte fermée (figure 33);
- On compare ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des entérobactéries, figurant dans les tables de lecture de CLSI, 2018;
- On classe la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.



Figure 33 : Mesure des zones d'inhibitions (Photo originale, 2022)

2.4. Recherche des BLSE «test de synergie » :

Le test de synergie permet la détection de BLSE chez une souche donnée par la mise en évidence d'une synergie entre un disque de céphalosporine de troisième génération (céftazidime, céfotaxime) et un disque contenant l'amoxicilline-acide clavulanique. Les disques d'antibiotiques sont disposés espacés sur la gélose MH (25 mm) : le disque d'amoxicilline + acide clavulanique est placé au centre entouré par les disques de céfotaxime (30µg) et de céftazidime (30µg). La boîte de Pétri est ensuite incubée pendant 24 heures à 37°C. Un test de synergie positif donne donc une image caractéristique, en « bouchon de Champagne » entre l'amoxicilline + acide clavulanique et céftazidime et/ou céfotaxime

CHAPITRE IV

Résultats & discussion

Chapitre IV

Résultats & discussion

1. Répartition des échantillons selon le type de prélèvement :

Sur les 46 prélèvements cliniques retenus dans l'étude, les prélèvements d'ECBU occupent la première position avec un taux évalué à 57% suivis de ceux de pus (16%) et de l'hémoculture (5%). Le reste des prélèvements (liquide pleural, collection intra-péritonite, abcès de la marge anale, sonde vésicale, liquide céphalo-rachidien, sepsis sur matériel, abcès appendiculaire, prélèvement distale protégé, abcès et plaie) n'ont pas dépassé les 2% (figure 34).

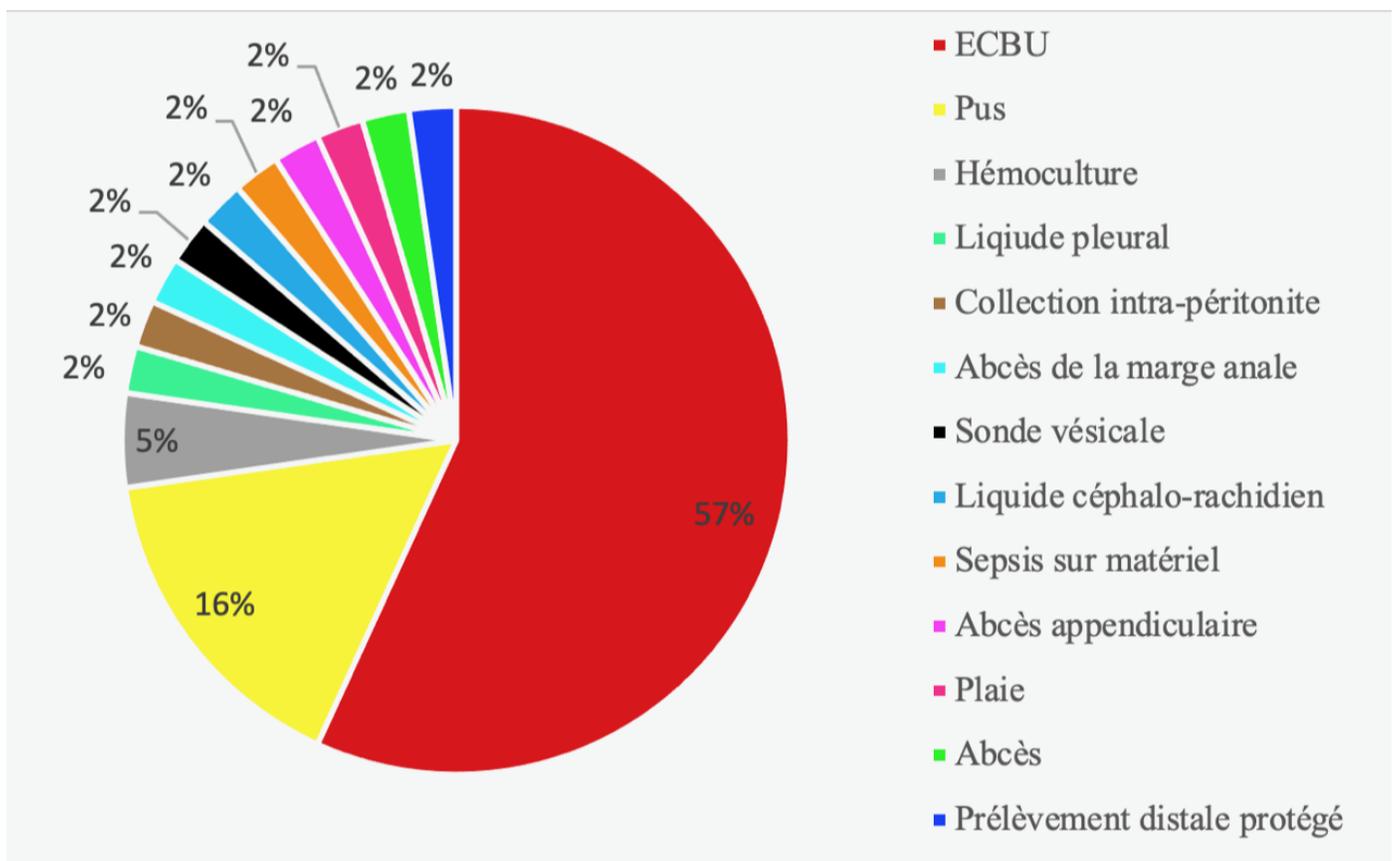


Figure 34 : Répartition des échantillons selon le type de prélèvement.

2. Répartition des échantillons selon le sexe du malade :

Sur les 46 échantillons cliniques collectés, 25 proviennent de malades de sexe féminin, soit un taux estimé à 57 %. En revanche, 19 prélèvements proviennent de sexe masculin, soit 43% (figure 35).

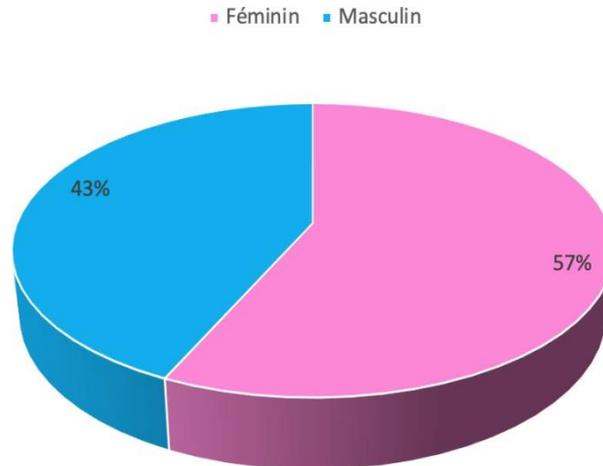


Figure 35 : Répartition des échantillons collectés selon le sexe du malade.

3. Fréquence d'isolement par espèce :

Les différents tests d'identification réalisés ont révélé une grande diversité des espèces d'entérobactéries isolées, comme illustré dans la figure ci-après.

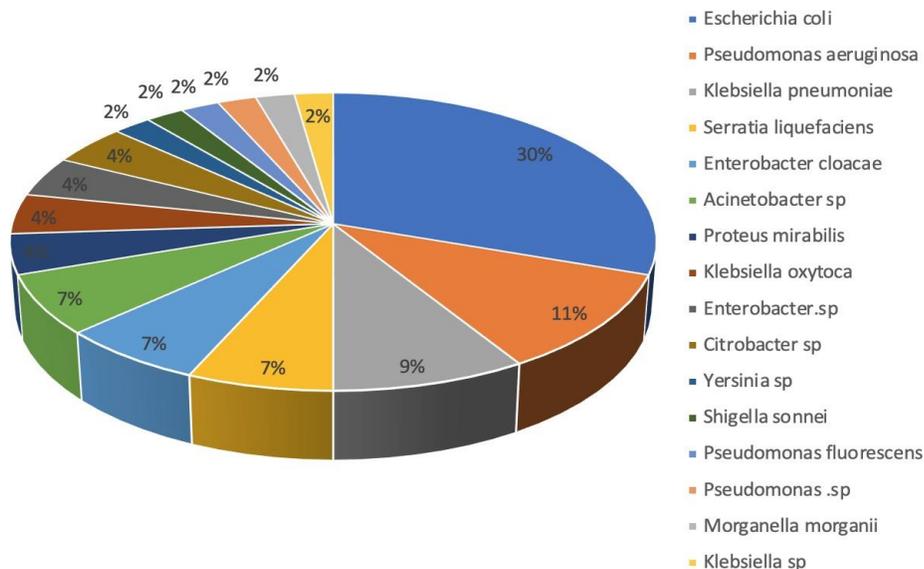


Figure 36 : Répartition des entérobactéries collectées selon l'espèce.

Escherichia coli est l'espèce la plus fréquemment isolée avec un pourcentage de 30% (figure 37) suivie de près par *Pseudomonas aeruginosa* avec 11%. *Klebsiella pneumoniae* a enregistré un taux d'isolement estimé à 9% (figure 36).



Figure 37 : Identification d'*E. coli* par galerie API20E (Photos originales, 2022).



Figure 38 : Identification de *Klebsiella pneumoniae* par galerie API20E (Photo originale, 2022).

Pour les trois espèces *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae* et *Acinetobacter* sp., un pourcentage de 7% a été observé, alors que pour les quatre espèces *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter*.sp et *Citrobacter* sp., une valeur de 4% a été notée. Les cinq espèces restantes, à savoir *Yersinia* sp., *Shigella sonnei*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* sp., *Morganella morganii* et *Klebsiella* sp. ont enregistré un taux d'isolement de 2%. La fréquence d'isolement par type de prélèvement et par sexe du malade est illustrée dans le tableau 6.

Tableau 6: Fréquence d'isolement selon le type de prélèvement et le sexe du malade.

Type de prélèvement	Sexe du malade	<i>E.coli</i>	<i>P.a</i>	<i>K.p</i>	<i>Ent.c</i>	<i>S.l</i>	<i>A.sp</i>	<i>P.m</i>	<i>K.o</i>	<i>C.sp</i>	<i>E.sp</i>	<i>Y.sp</i>	<i>S.s</i>	<i>M.m</i>	<i>P.f</i>	<i>K.sp</i>	<i>P.sp</i>
ECBU (n=25) 55%	Femme (n=18) 67%	7 39%	1 5.5%	3 16.7%	0	1 5.5%	0	0	1 5.5%	1 5.5%	1 5.5%	1 5.5%	0	1 5.5%	1 5.5%	0	0
	Homme (n=9) 33.3%	2 22.2%	2 22.2%	0	1 11.1%	1 11.1%	0	1 11.1%	0	1 11.1%	0	0	1 11.1%	0	0	0	0
Pus (n=9) 20%	Femme (n=2) 28.5%	0	0	0	0	1 50%	1 50%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=5) 71.4%	2 40%	1 20%	0	1 20%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 20%
Hémoculture (n=2) 5%	Femme (n=1) 50%	0	0	0	0	0	0	1 50%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=1) 50%	0	1 50%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liquide pleural (n=1) 2%	Femme (n=1) 100%	0	0	0	0	0	1 100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Collection intra-péritonite (n=1) 2%	Femme (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=1) 100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 100%	0

Abcès de la marge anale (n=1) 2%	Femme (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=1)100%	1 100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sonde vésicale (n=1) 2%	Femme (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=1)100%	0	0	1 100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liquide céphalo-rachidien (n=1) 2%	Femme (n=1)100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 100%	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sepsis sur matériel (n=1) 2%	Femme (n=1)100%	0	0	0	1 100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Abcès appendiculaire (n=1) 2%	Femme (n=1)100%	1 100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Plaie (n=1) 2%	Femme (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=1)100%	0	0	0	0	0	0	0	0	1 100%	0	0	0	0	0	0	0
Abcès (n=1) 2%	Femme (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	Homme (n=1)100%	1 100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Prélèvement distale -protégé (n=1) 2%	Femme (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Homme (n=1)100%	0	0	0	0	0	1 100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

E.coli : Escherichia coli ; *P.a* :Pseudomonas aeruginosa ; *K.p* :Klebsiella pneumoniae ; *Ent.c* :Enterobacter cloacae ; *S.l* :Serratia liquefaciens ; *A.sp* :Acinetobacter sp. ; *P.m* :Proteus mirabilis; *K.o* :Klebsiella oxytoca ; *C.sp* :Citrobacter sp. ; *E.sp* :Enterobacter.sp ; *Y.sp* : Yersinia sp. ;*S.s* : Shigella sonnei ; *M.m* : Morganella morgani ; *P.f* :Pseudomonas fluorescens ; *K.sp* :Klebsiella sp. ; *P.sp* :Pseudomonas sp. ; **ECBU** : examen cytobactériologique des urines.

La dominance des prélèvements d'ECBU observée dans la présente étude par rapport aux autres types de prélèvements est expliquée, selon les médecins que nous avons interrogés, par le fait que l'ECBU est l'examen bactériologique le plus réalisé et le plus demandé dans les hôpitaux et les laboratoires d'analyses. En revanche, les autres tests sont prescrits avec une fréquence moindre. A titre d'exemples, les prélèvements de pus sont recommandés en cas de suppuration, qu'elle soit superficielle (abcès cutané, escarre, infection folliculaire, ... etc.) ou profonde, et sont recueillis par ponction avec une seringue stérile ou un écouvillon. Les hémocultures sont prescrites en cas de suspicion de septicémie et sont réalisées en milieu stérile (site de ponction et couvercle du flacon) à l'aide d'une aiguille épicroténienne protégée. Pour ce qui est du liquide céphalo-rachidien, il n'est examiné que dans le cas de suspicion d'affection du système nerveux central (méningites).

Selon Gonsu et *al.* (2014), l'urine est un liquide biologique stérile qui, à l'état normal, est exempte de micro-organismes. De ce fait, la présence des entérobactéries dans les prélèvements d'urines témoigne de la forte incidence d'infections urinaires (IU) chez les malades. Nos résultats concordent avec ceux retrouvés à Guelma par Bentorki et *al.* (2012) et Es-saoudy (2019) à Marrakech qui affirment que les infections urinaires sont l'une des infections bactériennes les plus courantes, avec un poids économique et de santé publique important et un impact significatif sur la qualité de vie des personnes infectées, touchant 150 millions de personnes dans le monde chaque année (Flores-Mireles et *al.*, 2015). Cependant, ce chiffre reste probablement une sous-estimation de l'ampleur réelle du problème car il dépend entièrement des critères diagnostiques (symptomatologie et culture) et des sources de données, alors que de nombreuses personnes atteintes ne consultent pas et pratiquent l'automédication. En Algérie, les IU constituent un problème de santé publique et un motif de consultation très fréquent (Bentorki et *al.*, 2012).

Nos résultats ont mis en évidence que les femmes sont plus à risque de développer une IU que les hommes (67% contre 33%). D'autres travaux ont témoigné une prédominance chez le sexe féminin : 71% au Pakistan (Fatima et *al.*, 2018), 77% dans des hôpitaux espagnols (Rodríguez-Baño et *al.*, 2008), 58.28% dans la ville de Yaoundé au Cameroun (Gonsu et *al.*, 2014). De plus, Albert et *al.* (2004) ont également indiqué que 70% des femmes développeront une infection des voies urinaires au cours de leur vie, dont 30% auront des infections récidivantes (répétées).

Ces résultats concordent parfaitement avec ceux d'AbouHeidar et *al.*(2019) qui ont constaté que les IU sont deux fois plus susceptibles de survenir chez les femmes que chez les hommes dans toutes les tranches et qu'un tiers des femmes reçoivent un diagnostic d'IU avant l'âge de 24 ans, tandis que moitié en sont infectés au moins une seule fois avant l'âge de 35 ans.

Cette prédominance féminine a été expliquée par plusieurs auteurs. Bentroki et *al* (2012) et Gonsu et *al.* (2014) déduisent que ce constat serait liée à plusieurs facteurs, dont;

- La configuration anatomique : brièveté de l'urètre, proximité des orifices anal et vaginal ;
- L'insuffisance des pratiques d'hygiène ;
- Les rapports sexuels
- La grossesse : les IU sont fréquentes pendant la grossesse. Elles sont favorisées par les modifications anatomiques et les variations endocriniennes qui se produisent durant cette période ;
- Le diabète ;
- L'obésité ;
- La prédisposition génétique.

D'après nos résultats, il s'avère qu'*E. coli* est le germe le plus fréquemment isolé (30%). Ceci peut être expliqué par le fait le principal réservoir bactérien dans les IU (61.2%) est digestif et l'infection urinaire est en générale ascendante. *E. coli* représente le germe intestinal aérobie le plus dominant et possède de nombreux facteurs de virulence d'uro-pathogénicité entre autres le flagelle qui lui donne la capacité de migrer à contre-courant par voie ascendante, et les adhésives qui lui permettent d'adhérer à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales (Guenadez et Lachter, 2020).

Ceci a été déjà évoqué par plusieurs études locales, nationales et internationales. Des études ayant analysé la typologie des agents pathogènes à l'origine d'IU ont confirmé que ce bacille est le plus fréquemment responsable des IU chez des patients non diabétiques (Bauer et *al.*, 2005), chez les patients diabétiques (Malmartel et *al.*, 2016), chez les femmes enceintes (Ali et *al.*, 2020) et même chez les nouveau-nés (Emamghorashi et *al.*, 2012).

Concernant le taux d'isolement des autres espèces, il reste relativement faible ce qui témoigne de leur rôle secondaire dans la survenue d'IU. Ces résultats rejoignent une étude récente réalisée au service de microbiologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech durant la période s'étalant de

2014 à 2018 qui affirment qu'*E. coli* demeure l'espèce dominante (71,1%) suivie de *Klebsiella* spp. (15%), *Enterobacter cloacae* (5%), *Proteus mirabilis* (3%) (ES-Saoudy, 2019). De même, Nos données concordent avec celles retrouvées dans une étude menée par Lacheheb et Bendagha (2016) au laboratoire d'hygiène de Constantine avec une prédominance d'*E. coli* (64%), suivi de *Klebsiella pneumoniae* (15%) et *Proteus mirabilis* (5,1%).

4. Profil de résistance des souches isolées :

Un antibiogramme a été effectué sur chaque souche afin d'étudier leur comportement vis-à-vis de différents antibiotiques. L'interprétation des résultats (sensible, intermédiaire, résistante) a été faite selon les diamètres critiques recommandés par CLSI, 2018. Les résultats sont présentés par des histogrammes donnés dans la figure suivante :

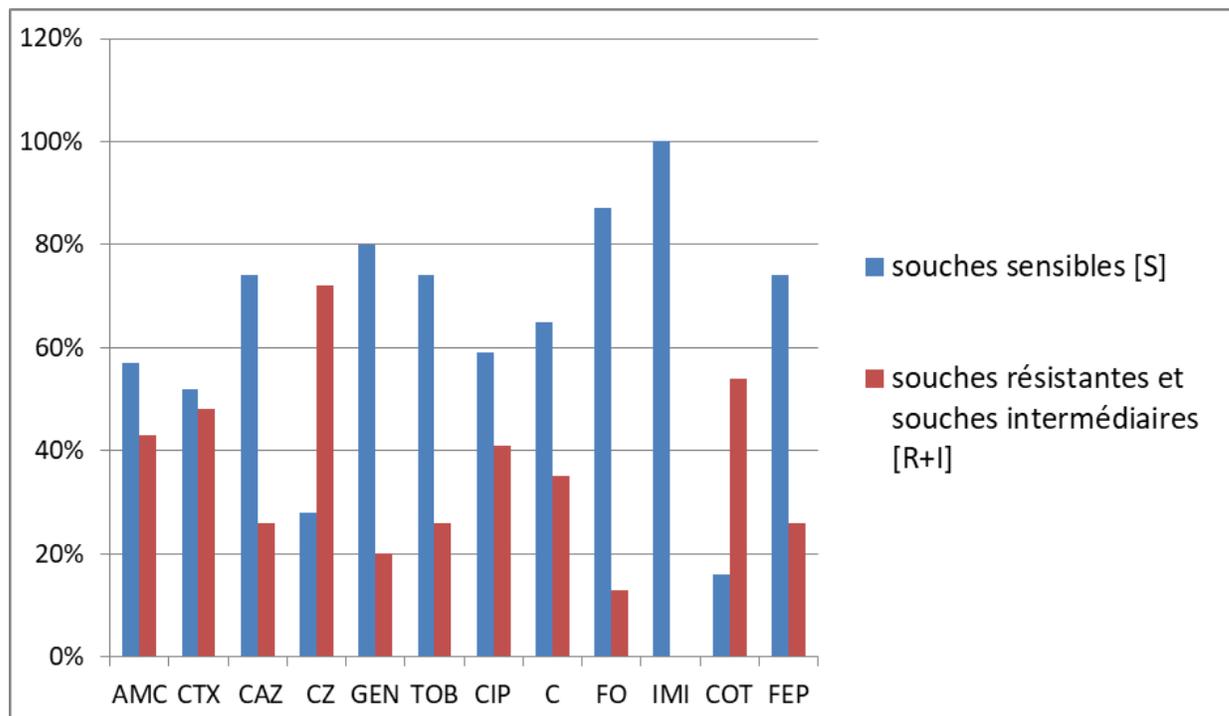


Figure 39 : Profil de résistance et de sensibilité chez les entérobactéries.

AMC : Amoxicilline+acide clavulanique ; **CTX** : Céfotaxime ; **CAZ** : Ceftazidime ; **CZ** : Céfazoline ; **GEN** : Gentamicine, **TOB** : Tobramicine ; **CIP** : Ciprofloxacine ; **C** : Chloramphénicol ; **FO** : Fosfomycine ; **IMI** : Imipénème ; **COT** : Cotrimoxazole ; **FEP** : Céfipime.

Des taux de résistance plus ou moins élevés ont été notés chez nos souches. Le taux de résistance le plus élevé a été enregistré à l'encontre de la Céfazoline (72%), de la Cotrimoxazole (54%) et de la Céfotaxime (52%). Des résistances plus faibles ont été observées pour l'Amoxicilline + acide clavulanique (43%), la Ciprofloxacine (41%) et le Chloramphénicol (35%). De plus, 11 souches (24%) se sont montrées multi-résistantes (résistantes à au moins trois familles d'antibiotiques). En revanche, des pourcentages de sensibilité importants ont été observés vis-à-vis de la Fosfomycine (87%), de la Gentamycine (80%), de la Ceftazidime, le Céfépime et la Tobramycine (74%). En ce qui concerne l'imipénème, la totalité de nos souches conservent une excellente sensibilité.

La résistance aux différents antibiotiques appartenant aux β -lactamines révélée dans la présente étude a également été rapportée par plusieurs auteurs, dont Souna *et al.*, 2014. De même, Touati *et al.* (2019) ont communiqué des résistances à l'encontre de la Ceftazidime et de la Céfépime. Des inquiétudes naissent du moment que des résistances vis-à-vis de l'Amoxicilline + l'acide clavulanique, des céphalosporines de troisième génération (la céftazidime et la céfotaxime) sont enregistrées même avec des faibles taux, car ces molécules sont largement utilisées et occupent une place prépondérante en médecine humaine. Pour ce qui est de l'Amoxicilline+l'acide clavulanique, le taux enregistré dans notre étude (43%) sont comparables aux valeurs rapportées par Bontroki *et al.* (2012) et à celles de Rakotovao-Ravahatra *et al.* (2017), estimées respectivement à 45% et 49%. Cette résistance est acquise et serait la conséquence de la pression de sélection liée à la consommation abusive et l'utilisation irraisonnée et incontrôlée des antibiotiques dans le traitement des infections sans passer par l'antibiogramme ni par la culture bactériologique pour déterminer le germe en cause. De même, l'automédication se pose avec gravité dans notre pays où ces antibiotiques sont facilement disponibles et sont vendus souvent sans ordonnance médicale.

En ce qui concerne la Ciprofloxacine, le représentant des quinolones dans la présente étude, la résistance enregistrée est alarmante étant donné que cette molécule est utilisée dans le traitement de plusieurs types d'infections grâce à son large spectre. Comme il a été déjà évoqué dans la partie bibliographique, cette résistance est due majoritairement à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes modifiant la cible de l'antibiotique qui est la topo-isomérase (Mesaros *et al.*, 2005). Concernant la gentamicine, le taux de résistance relativement faible est expliqué par son utilisation est généralement limitée à des cas exceptionnels en raison de sa néphro et ototoxicité (Boudia *et al.*, 2017).

Pour l'imipénème, cette forte sensibilité par rapport aux autres molécules est expliquée par son utilisation rare par les médecins à cause de son indisponibilité au niveau des pharmacies. De ce fait, les bactéries n'ont pas encore acquis de résistance contre ces molécules (Zenati et *al.*, 2019). Sa bonne activité microbienne est liée en particulier à la rapidité de leur pénétration transmembranaire à travers la paroi externes des entérobactéries et à leur stabilité vis-à-vis de la plupart des β -lactamases naturelles ou acquises (Nordmann et Carrer, 2010). Ces antibiotiques ayant montré une bonne activité contre nos isolats constituent les molécules de choix pour l'antibiothérapie ce qui permet d'éviter l'impasse thérapeutique.

5. Prévalence des bactéries BLSE :

Sur les 46 isolats d'entérobactéries, nous avons relevé la présence de 2 souches productrices de β -lactamases à spectre étendu (soit un taux de 4%) : la souche 223 attribuée à l'espèce d'*E.coli* et la souche 302 attribuée à l'espèce de *Klebsiella pneumoniae*. Les deux images de synergie observées sont illustrées dans la figure ci-après.

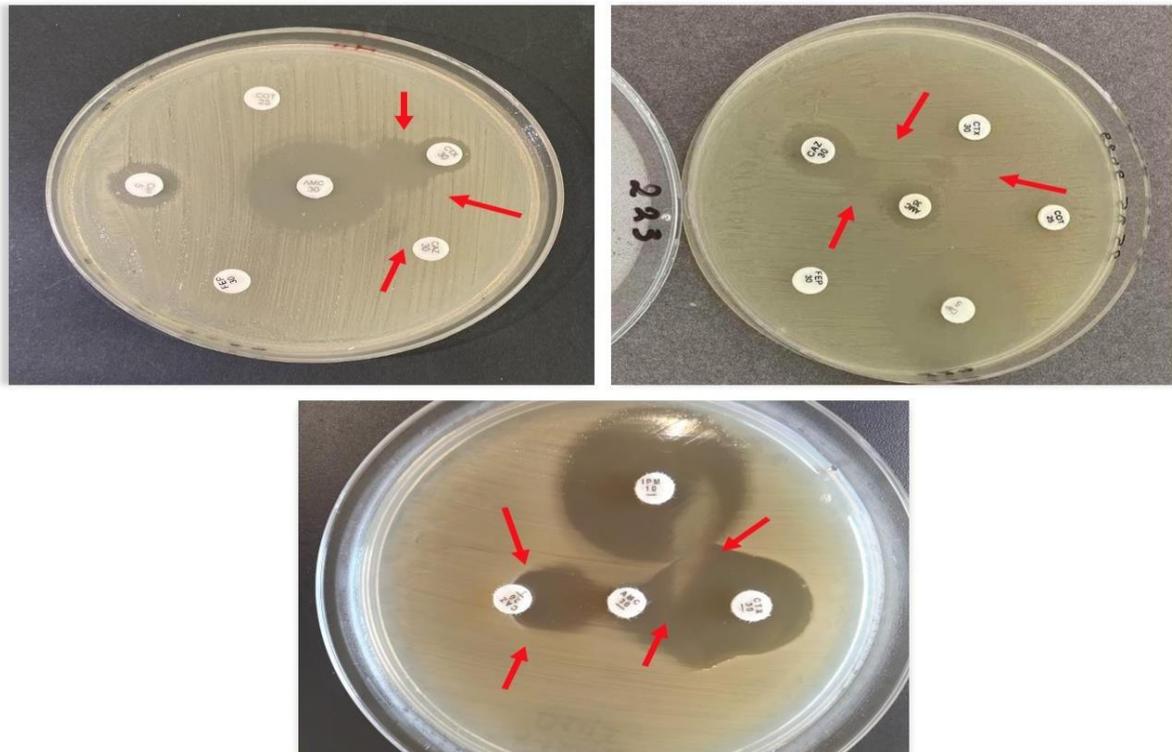


Figure 40 : Images de synergie observées chez *E. coli* 223 et *K. pneumoniae* 302

(Photos originales, 2022)

La prévalence globale des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) varie entre les pays, les espèces et même d'un service à l'autre au sein de la même institution hospitalière (Dubouix et Marty, 2004). Ce type de bactérie a largement diffusé en Algérie au cours de ces dernières années. Sa prévalence a passé de 5.7% en 2005 dans les hopitaux d'Alger (Ramdani et al., 2006) à 54% en 2013 (Medboua-Benbalagh et al., 2017). Généralement, nos résultats sont similaires aux résultats de l'étude de Benhadj et al. (2017) réalisée à Tebessa. Néanmoins, des prévalences modérées et d'autres plus élevées ont été enregistrées. Nabti et al. (2019) ont affiché une prévalence de 17.2% dans leur étude sur les *E. coli* isolées d'IU chez les patients hospitalisés et non hospitalisés à l'hôpital de Sétif. De même, un taux de 17.7% a été noté par Iabadene et al. (2008) et 24% par Meradi et al. (2009). Zenati et al. (2019) ont communiqué un taux évalué à 32.5% chez les patients hospitalisés à l'hôpital de Tlemcen. Un pourcentage beaucoup plus haut (61.8%) a été observé par Batah et al. (2015), par Labid et al. (2014) (92.9%) et par Zaket et al. (2013) (100%). D'autres études ont également signalé la présence de ce mécanisme de résistance dans les hôpitaux de Béjaia (Touati et al., 2006), de Tlemcen (Baba-Ahmed et al., 2012) et de Constantine (Agabou et al., 2014).

Tous ces auteurs montrent que ce sont des bactéries multi-résistantes (BMR) majoritaires qui causent des infections sévères notamment les IU nosocomiales et communautaires, et représentent un réel problème de santé publique. Ceci est principalement dû aux prescriptions démesurées et l'utilisation irraisonnée des antibiotiques, notamment les β -lactamines, qui, malgré leur ancienneté, restent les molécules les plus employées en antibiothérapie (Sbiti et al., 2017).

Il est à signaler que durant les six mois de l'étude, les deux souches BLSE ont été retrouvées au sein de l'EPH de Mehad Abdelkader. L'isolat de *Klebsiella pneumoniae* a été détecté au service de réanimation chez un patient qui a été vulnérable aux infections suite à son hospitalisation prolongée et son exposition à des dispositifs invasifs (sonde vésicale et tube endotrachéal). Le deuxième isolat d'*E. coli* a été révélé chez un prélèvement d'urines d'une patiente fonctionnaire à l'hôpital, ce qui suggère l'origine nosocomiale de cette infection. En général et comme déclaré par Sbiti et al. (2017), les patients hospitalisés au sein des services de réanimation et d'urologie sont plus concernés et présentent plus de risques à contracter une infection à des souches productrices de BLSE ceci peut être lié à plusieurs facteurs : antibiothérapie abusive, gestes et dispositifs invasifs, long séjour hospitalier et autres.

Pour ce qui est du déterminant génétique de cette production de BLSE, nous suggérons l'implication d'un gène variant de la famille *bla*_{CTX-M}, étant donné que l'image de synergie a apparu plus nettement avec le disque de Céfotaxime. En plus, l'expansion et l'émergence à l'échelle mondiale des enzymes de type CTX-M sont signalées (Sbiti et *al.*, 2017 , Zenati et *al.*, 2019). Cependant, une étude moléculaire qui porte sur la caractérisation des gènes de résistance serait primordiale.

Comme montré dans la figure ci-dessous, d'autres souches résistantes aux céphalosporines de 3G de haut niveau mais non sécrétrices de BLSE (absence de toute image de synergie) ont également été détectées. Ce phénomène peut être expliqué par un autre mécanisme de résistance : la production de céphalosporinases chromosomiques de type AmpC. Ce sont des céphalosporinases chromosomiques qui peuvent être présentes chez les entérobactéries. Elles causant une résistance aux céphalosporines de 1ère et de 2ème génération et aux combinaisons : inhibiteurs de β-lactamase/β-lactame. Cependant, des mutations peuvent conduire à une surexpression de ces enzymes, ce qui confère une résistance aux céphalosporines à large spectre, y compris la céfotaxime, la ceftazidime et la ceftriaxone (George et Jacoby, 2009).

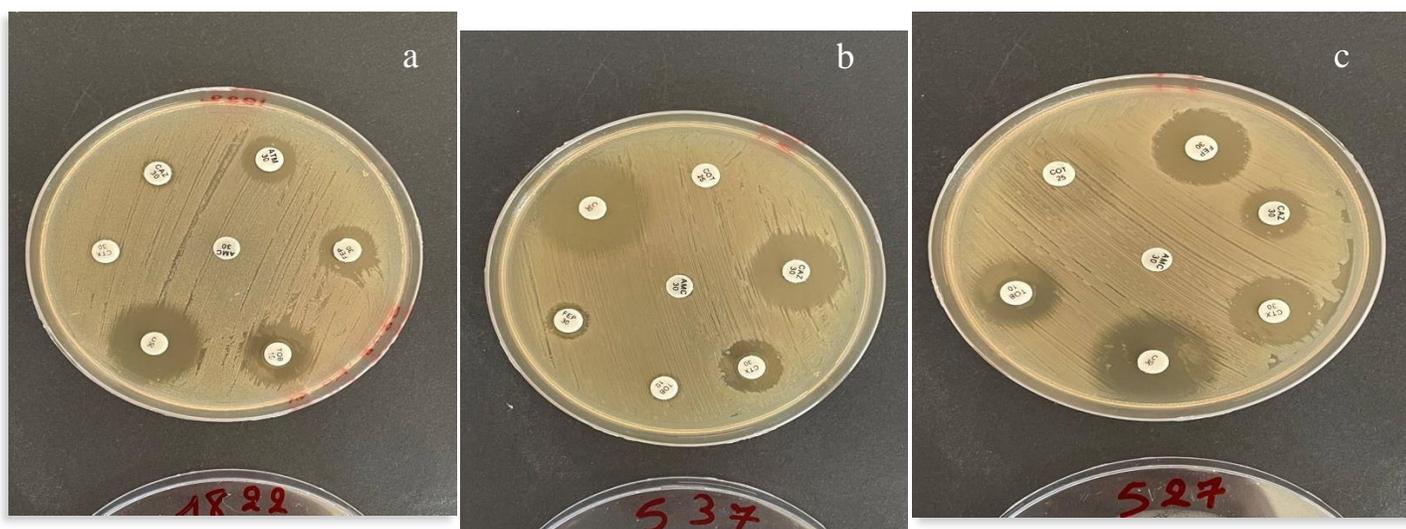


Figure 41 : Photographies de souches résistantes aux C3G avec absence de synergie.

- (a) : Image de résistance aux céphalosporines de 3G chez la souche 1822 (*Klebsiella pneumoniae*) ;
- (b) : Image de résistance aux céphalosporines de 3G chez la souche 537 (*Escherichia coli*) ;
- (c) : Image de résistance aux céphalosporines de 3G chez la souche 527 (*Klebsiella oxytoca*)

Afin de comprendre le comportement des souches BLSE vis-à-vis des antibiotiques et d'illustrer les mécanismes de résistance en cause, une étude moléculaire basée sur la caractérisation des gènes de résistance, de virulence, de l'environnement génétiques (détermination des éléments génétiques mobiles qui portent ces gènes de résistance) et des lignées génétiques contribuant à la diffusion de ces résistances serait nécessaire. De plus, on s'est mis d'accord avec le laboratoire d'EPH de Djelfa de nous collecter les souches BLSE détectées, afin de nous permettre de poursuivre nos recherches dans ce domaine.

CONCLUSION

Conclusion

La présente étude réalisée sur une période de cinq mois avait pour objectif la caractérisation du profil de résistance des souches d'entérobactéries productrices de BLSE collectées à l'EPH Mouhad Abdelkader et aux laboratoires d'analyses médicales Homaida et Meddah Abdelaziz, instaurés dans la ville de Djelfa.

Sur les 46 souches d'entérobactéries isolées principalement de prélèvements d'ECBU (57%), de pus (16%) et d'hémoculture (5%), *E. coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux estimé à hauteur de 30%, suivie de près par *Pseudomonas aeruginosa* (11%) et *Klebsiella pneumoniae* (9%). De plus, les femmes se sont montrées les plus à risque (57%).

En ce qui concerne les résultats de l'antibiogramme, les taux de résistance les plus élevés ont été enregistrés à l'encontre de la Céfazoline (72%), de la Cotrimoxazole (54%) et de la Céfotaxime (52%). Des résistances plus faibles ont été observées pour l'Amoxicilline + acide clavulanique (43%), la Ciprofloxacine (41%) et le Chloramphénicol (35%). De plus, 11 souches (24%) se sont montrées multi-résistantes. En revanche, des pourcentages de sensibilité importants ont été observés vis-à-vis de la Fosfomycine (87%), de la Gentamycine (80%), de la Ceftazidime, le Céfépime et la Tobramycine (74%). Pour ce qui est de l'imipénème, la totalité de nos souches conservent une excellente sensibilité. Aussi, 2 souches (un isolat d'*E.coli* et un de *K. pneumoniae*) se sont révélées productrices de BLSE, soit une prévalence de 4%.

A notre connaissance, la présente étude décrit, pour la première fois, la détection de β -lactamases de type BLSE et d'autres céphalosporinases dans les souches cliniques isolées des établissements de santé de la ville de Djelfa. Ce constat est alarmant et doit susciter l'intérêt des responsables de la santé de notre wilaya, car ces souches résistantes peuvent conduire à des échecs thérapeutiques, ce qui constitue une menace de santé publique.

❖ Pour remédier à cette situation, un ensemble d'actions doit être envisagé :

- Prévention des infections par des mesures d'hygiène individuelles (corporelle, vestimentaire et alimentaire), collectives et environnementales (sécurité alimentaire et vaccination) ;

- Optimisation de l'usage des antibiotiques surtout avec la pandémie du Covid-19 qui a été marquée par une augmentation terrifiante de la consommation des antibiotiques dans le monde entier (en raison des infections secondaires) ;

- Développement de nouvelles molécules d'antibiotiques ;

- Développement, à moyen ou à long terme, de nouvelles stratégies alternatives comme la phagothérapie.

❖ En ce qui concerne les perspectives de l'étude, nous proposons de :

- Réaliser des études approfondies touchant un nombre plus élevé de souches et couvrant plusieurs hôpitaux/ laboratoires étatiques et privés de la wilaya de Djelfa ;

- Entreprendre une étude moléculaire portant sur la détermination des gènes de résistance et de leurs supports génétiques dans les souches résistantes révélées dans cette étude ;

- Communiquer les résultats de cette étude.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

AbouHeidar, N.F., Degheili, J.A., Yacoubian, A.A., & Khauli, R.B. (2019). "Management of urinary tract infection in women: A practical approach for everyday practice". *Urologyannals*, 11(4): 339–346.

Abraham, E. P., Chain, E. (1940) "An Enzyme from bacteria able to destroy penicillin". *Nature*; 146: 837.

Agabou, A., Pantel, A., Ouchenane, A., Lezzar, N., khemissi, S., Satta, D., Lavaigne, 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". *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 33:1641-1646.

Albert, X., Huertas, I., Pereiro, I., Sanfelix, J., Gosalbes, V., Perrota, C. (2004). "Antibiotics for preventing recurrent urinary tract infection in non-pregnant women". *Cochrane Database Syst Rev*, 3: Cd001209.

Alekshun, M. N., & Levy, S. B. (2007). Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. In *Cell* (Vol. 128, Issue 6, pp. 1037–1050). Elsevier B.V.

Ali, S.B., Perdawood, D., Abdulrahman, R.M., Al Farraj, D.A., Alkubaisi, N.A. (2020). "Vitamin D deficiency as a risk factor for urinary tract infection in women at reproductive age". *Saudi J BiolSci*, 27: 2942-2947.

Ambler, R.P., Coulson, A.F.W., Frere, J.M., Ghuysen, J.M., Joris, B., Forsman, M., Levesque, R.C., Tiraby, G., Waley, S.G. (1991) "A standard numbering scheme for the Class A β -lactamases" *BJ Letters*, (276): 269-272

Ambler, R.P. (1980) "The structure of β -lactamases". *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*; 289: 321–331.

Asma, L., Djamila, G.-K., Mohammed, T., Kamel, A., & Jean-Marc, R. (2014). High prevalence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producers in fatal cases of pediatric septicemia among the Enterobacteriaceae in the pediatric hospital of Annaba, Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 8(9), 947–954.

Baba Ahmed, Z., Ayad, A., Mesli, E., Messai, Y., Bakour, R., and Drissi, M. (2012). "CTX-M-15 extended-spectrum- β -lactamases in Enterobacteriaceae in the intensive care unit of Tlemcen Hospital, Algeria". *Eastern Mediterranean Health Journals*, 18(4): 382- 386.

Baba Ahmed-Kazi Tani, Z., Decré, D., Genel, N., Boucherit-Otmani, Z., Arlet, G., & Drissi, M. (2013). Molecular and epidemiological characterization of enterobacterial multidrug-resistant strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008-2010). *Microbial Drug Resistance*, 19(3), 185–190.

Batah, R., Loucif, L., Olaitan, A. O., Boutefnouchet, N., Allag, H., & Rolain, J. M. (2015). Outbreak of *Serratia marcescens* coproducing ArmA and CTX-M-15 mediated high levels of resistance to aminoglycoside and extended-spectrum beta-lactamases, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 21(4), 470–476.

Bauer, H.W., Alloussi, S., Egger, G. (2005) “A long-term, multicenter, double-blind study of an *Escherichia coli* extract (OM-89) in female patients with recurrent urinary tract infections”. *EurUrol*, 47: 542-548.

Benhadj, M. (2019). Frequency and Antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae Isolated in Community Urinary Tract Infections at Tebessa Region. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 12(2).

Bentorki, A.A., Gouri, A., Yakhlef, A., Touaref, A., Gueroudj, A., Bensouilah, T. (2012). “Résistance aux antibiotiques de souches isolées d’infections urinaires communautaires entre 2007 et 2011 à Guelma (Algérie)”. *Ann BiolClin*,70(6) : 666-8

Bialvaei, AZ., Samadi, Kafil H. (2015) “Colistin, mechanisms and prevalence of resistance”. *Curr Med Res Opin*, 31(4):707-21

Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 13, Issue 1, pp. 42–51). Nature Publishing Group.

Boudjemaa, H., Allem, R., Fonkou, M. D. M., Zouagui, S., Khennouchi, N. C. el H., & Kerkoud, M. (2019). Molecular drivers of emerging multidrug resistance in *Proteus mirabilis* clinical isolates from Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 18, 249–256.

Bouguenoun, W., Bakour, S., Bentorki, A. A., al Bayssari, C., Merad, T., & Rolain, J. M. (2016). Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-producing Gram-negative bacilli from hospitals in Guelma, Algeria: Multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in *Enterobacter cloacae*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 7, 135–140.

Bouklallaba, M.(2018) “Etude des Sites Métalliques et Modélisation de la Réactivité des Métallo- β -lactamases par des Calculs de Chimie Quantique” Thèse de Doctorat,Univ Montpellier,Tunisie,148

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

Bush, K., Jacoby, G.A., Medeiros, A.A.(1995) “A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure”. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39(6) : 1211-1233

Bush, K., Jacoby, G.A.(2009) “Updated Functional Classification of β -Lactamases”.*Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,54(3) : 969-976

Cambau, E., Williams, DL. (2019) “Anti-leprosy drugs: Modes of action and mechanisms of resistance in *Mycobacterium leprae*”, Chapter 5.2. In Scollard DM, Gillis TP (ed), International textbook of leprosy.

Carle, S. (n.d.). *La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important!*

Castanheira, M., Simmer, J.P., Bradford, P.A.(2022) “ Extended-spectrum β -lactamases :an update on their characteristics, epidemiology and detection”*JAC Antimicrob Resist* ,1-21

Cattoir, V .(2008). “Les nouvelles bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) ”.*MAPAR* ,203-209

Choffnes, E.R., Relman, D.A., Mack, A. (2010). “Antibiotic resistance: implications for global health and novel intervention strategies”: *workshop summary*. NAP: 496 pages.

D’Andrea, M.M., Arena, F., Pallecchi, L.,Rossolini, G.M.(2013).“CTX-M type β -lactamases : A successful story of antibiotic resistance”.*International Journal of Medical microbiology* , 303:305-317

Diagne, R., Ngom, B., Ngom, M., kar, Los, Diaml, Sow, A. (2018). “Recherche de gènes BLSE de type TEM, SHV et OXA-1 sur des souches d’E.coli solées au laboratoires de bacteriologie de Fann, Sénégal””. *Revue Africaine et Malgache pour la recherche Scientifique /Science de la Santé*, 1(1) :2424-7243.

Dowling, M.A., O'Dwyer, J., Adley, C.(2017) “Antibiotics: Mode of action and mechanisms of resistance” *Antimicrobial research*,536-545

Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. (2010). Three decades of β -lactamase inhibitors. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 23, Issue 1, pp. 160–201).

Dubouix, A., & Marty, N. (2004). Molecular detection of extended-spectrum beta-lactamases producing enterobacteria: Advantages and limits. *Antibiotiques*, 6(3), 193–201.

Emamghorashi, F., Mahmoodi, N., Tagarod, Z., Heydari, S.T 2012.“Maternal urinary tract infection as a risk factor for neonatal urinary tract infection”.*Iran J Kidney Dis*, 6(3):178-80.

Erika Boulant, Anne Davin-Regli, Jean-Marie Pagès, Jean-Michel Bolla, Les pompes d'efflux, mécanisme de résistance bactérien, Revue Francophone des Laboratoires, Volume 2020, Issue 519, 2020, Pages 38-49, ISSN 1773-035X.

ES-Saoudy, I. (2019). “Profil bactériologique des infections urinaires à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech”. Thèse de Doctorat en médecine, *Univ, Cadi Ayyad, Marrakech* ,115 p.

Etebu, E., Arikekpar, I.,(2016) “Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives”.*Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res*,90-101

Fatima, S., Muhammad, I. N., Usman, S., Jamil, S., Khan, M.N., Khan, I.S .(2018) “Incidence of multidrug resistance and extended-spectrum bêta-lactamase expression in community-acquired urinary tract infection among different age groups of patients”. *Indian journal of pharmacology* , 50 (2) :69-74

Fleming, A. (1929) “On the antibacterial action of cultures of a penicillium with special reference to their use in the isolation of *B. Influenza*”. *Bull World Health Organ* 2001; 79:780-790.

Flores-Mireles, A.L., Walker, J.N., Caparon, M., Hultgren, S.J. (2015).“Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options”. *Nature reviews. Microbiology*, 13(5):269–284.

Foti, C., Piperno, A., Scala, A., & Giuffrè, O. (2021). Oxazolidinone antibiotics: Chemical, biological and analytical aspects. *Molecules*, 26(14).

Ghafourian, S., Sadeghifard, N., Soheili, S., Sekawi, (2015). Z. “Extended Spectrum Beta-lactamases : Definition, Classification and Epidemiology”. *Curr. Issues Mol. Biol*, 17 : 11-22

Gonsu, H., Nzengang, R., Toukam, M., Sando, Z., & Koulla shiro, S. (2014). “Phénotype de résistance des souches d'Escherichia coli responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de yaoundé (Cameroun)”. *African Journal of Pathology and microbiology*, 3:1-4.

Guenadez, M.O., Lachter, F.(2020). “Profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes sécrétrices de BLSE ” Mém. Master en biologie moléculaire des microorganismes, *Univ.des Frères Mentouri, Costantine* , 147p

Harbottle, H., Thakur, S., Zhao, S., & White, D. G. (2006). Genetics of antimicrobial resistance. *Animal Biotechnology*, 17(2), 111–124.

Heidary, M., Ebrahimi Samangani, A., Kargari, A., Kiani Nejad, A., Yashmi, I., Motahar, M., Taki, E., Khoshnood, S.(2022). “Mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of azithromycin”. *J Clin Lab Anal*, 36(6):e24427.

Hoffman, S. B. (2001). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 23(5), 464–472.

<https://lab.upbm.org/identifieur/galerie.php>

Hutchings, M., Truman, A., Wilkinson, B.(2019) “Antibiotics: past, present and future”. *.Current Opinion in Microbiology*,51 :72-80.

Iabadene, H., Bakour, R., Messai, Y., da Costa, A., & Arlet, G. (2009). Détection des gènes blaCTX-M-14 et aac(3)-II chez Salmonella enterica sérotype Kedougou en Algérie. In *Medecine et Maladies Infectieuses* (Vol. 39, Issue 10, pp. 806–807).

Iabadene, H., Dallenne, C., Messai, Y., Geneste, D., Bakour, R., & Arlet, G. (2009). Emergence of extended-spectrum β -lactamase PER-1 in Proteus vulgaris and Providencia stuartii isolates from Algiers, Algeria. In *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (Vol. 53, Issue 9, pp. 4043–4044).

Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Ramdani-Bouguessa, N., Lounes, S., Bakour, R., & Arlet, G. (2008). Dissemination of ESBL and Qnr determinants in Enterobacter cloacae in Algeria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62(1), 133–136.

Jacoby, G. A. (2009). AmpC B-Lactamases. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 22, Issue 1, pp. 161–182).

Jeff Pootoolal, John Neu, and Gerard D. Wright. (2022) *Glycopeptide antibiotic resistance - ProQuest*. (n.d.).

Jg, M. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques: les mécanismes et leur « contagiosité ». In *Ann. Méd. Vét* (Vol. 156).

Kapoor, G., Saigal, S., Elongavan, A.(2017) “Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians”*Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*,33(3):300-305

Kardos, N., & Demain, A.L (2011). “Penicillin: the medicine with the greatest impact on therapeutic outcomes”. *Appl Microbiol Biotechnol*; 92:677-687.

Kelly M. Antibiotic Classification and Indication. *Infusion Nurses Society*. (2017). 40(1) : 55-63 ;

Kırmusaoğlu, S., Gareayaghi, S., Kocazeybek, S.B.(2019) “Antimicrobial, Antibiotic Resistance, Antibiofilm strategies and Activity Methods”*IntechOpen*,140

Kohanski, M. A., Dwyer, D.J., Collins, J.J. (2010) “How antibiotics kill bacteria: from targets to networks”. *Nat Rev Microbiol*; 8:423-435.

Lacheheb, L., Bendagha, Y (2016). “Les infections urinaires”. Mém. Master en biologie . *Fac. Sci Natu. Vie, Univ.des Frères Mentouri, Costantine* , 71p

Léone, M., Ayem, M. L., & Martin, C. (2000). Reçu le 19 mai 1999 ; accepté après révision le 28 décembre 1999. In *Ann Fr Anesth Réanim* (Vol. 19).

Linda A. Miller, Kapila Ratnam, David J. Payne.2001.β-Lactamase-inhibitor combinations in the 21st century: current agents and new developments, *Current Opinion in Pharmacology*, Volume 1, Issue 5, Pages 451-458, ISSN 1471-4892.

Livermore, D.M.(1995) “β -Lactamases in laboratory and clinical resistance”. *Clinical Microbiology Reviews*, 8(4) : 557-584

Loucif, L., Gacemi-Kirane, D., Cherak, Z., Chamlal, N., Grainat, N., & Rolain, J. M. (2016). First report of German cockroaches (*Blattella germanica*) as reservoirs of CTX-M-15 extended-spectrum- β -lactamase- and OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Batna University Hospital, Algeria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(10), 6377–6380.

Malmartel, A., Ghasarossian, Ch.(2016).“Bacterial resistance in urinary tract infections in patients with diabetes matched with patients without diabetes”.*J Diabetes Complications*,30:705-709

Mangin, L.(2018) “Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public” Thèse de Doctorat en pharmacie,Univ de Lorraine,France,125

Marilyse, V.(2015) “Résistance aux β -lactamines à large spectre chez les bactéries à Gram négatif Épidémiologie et diagnostic”Mém,Univ Laval,Québec,canada,137

Mechai, A., Debabza, M., Fares, R., Metrouh, R., & Amra, A. (2020). “Antibiotic susceptibility pattern and phenotypic characterization of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from various clinical samples”,*Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae View project microbiological characterization of traditional fermented milk View* (Vol. 19, Issue 12).

Medboua-Benbalagh, C., Touati, A., Kermas, R., Gharout-Sait, A., Brasme, L., Mezhoud, H., Touati, D., Guillard, T., & de Champs, C. (2017). Fecal Carriage of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Strains Is Associated with Worse Outcome in Patients Hospitalized in the Pediatric Oncology Unit of Beni-Messous Hospital in Algiers, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 23(6), 757–763.

Meradi, L., Djahoudi, A., Abdi, A., Bouchakour, M., Perrier Gros Claude, J. D., & Timinouni, M. (2011). Résistance aux quinolones de types qnr, aac (6⁷)-Ib-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie. *Pathologie Biologie*, 59(4).

Mesaros, N., van Bambeke, F., Avrain, L., Glupczynski, Y., Vanhoof, R., Plesiat, P., & Tulkens, P. (n.d.).(2005). *L efflux actif des antibiotiques et la résistance bactérienne : état de la question et implications - Active antibiotic efflux: state of the art and implications.*

Messai, Y., Iabadene, H., Benhassine, T., Alouache, S., Tazir, M., Gautier, V., Arlet, G., & Bakour, R. (2008). Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie*, 56(5), 319–325.

Monnet, D.L. (2000) "Antibiotic use and bacterial resistance", *Ann Fr Anesth Reanim* 19(5): 409- 17.

Munita JM, Arias CA. 2016. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol Spectrum* 4(2):VMBF-0016-2015.

Muyleart, A., & Mainil, J.G. (2012). "Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur "contagioste"". *Ann.Méd Vét*,156:109-123.

Nabti, L. Z., Sahli, F., Radji, N., Mezaghcha, W., Semara, L., Aberkane, S., Lounnas, M., Solassol, J., Didelot, M. N., Jean-Pierre, H., Dumont, Y., & Godreuil, S. (2019). High Prevalence of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* in Urine Samples from Inpatients and Outpatients at a Tertiary Care Hospital in Sétif, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 25(3), 386–393.

Nedjai, S., Barguigua, A., Djahmi, N., Jamali, L., Zerouali, K., Dekhil, M., & Timinouni, M. (2012). Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 42(1), 20–29.

Obanovska, M., Pilla, G.(2017). "Penicillin's Discovery and Antibiotic Resistance: Lessons for the Future? ". *J Biol Med*,29;90(1):135-145.

O'Neill, J.(2016). "Tackling Drug-Resistant Infections Globally :Final Report and Recommendations" .*Rev. Antimicrob. Res*, 1-84

Ogawara, H(1981). "Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to beta-lactam antibiotics". *Microbial.Rev*, 45(4) : 591-619 ;

Philippon, A .(2013). "Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE) ".*Immuno-analyse et biologie spécialisée*,(28), 287- 296

Prescott, L. M., Klein, D. A., Harley, J. P. (2010). *Microbiologic 3e éd*", 1088 pages.

Ramdani-Bougoussa, N., Mendonça, N., Leitao, J., Ferreira, E., Tazir, M., Canica, M. (2006). "CTX-M-3 and CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamases in isolates of *Escherichia coli* from a hospital in Algiers, Algeria".*Journal Of ClinicalMicrobiology*, 44(12):4584-4586.

Ravat F, Jault P, Gabard J.(2015). Bactériophages et phagothérapie: utilisation de virus naturels pour traiter les infections bactériennes. *Ann Burns Fire Disasters*.28(1):13-20. French. PMID: 26668557; PMCID: PMC4665175.7

Rodríguez-Baño, J., Alcalá, J. C., Cisneros, M.J., Grill, F., Oliver, A., Horcajada, P.J., Tottola, T., Mirelis, B., Navarro, G., Cuenca, M., Esteve, M., Pena, C., Llanos, C.A., Canton, R., Pascual, A. (2008). "Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*". *Archives of internal medicine*, 168(17) :1897-1902

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

Sbiti, M., Lahmadi, K., & Louzi, L. (2017). Profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi. *Pan African Medical Journal*, 28.

Souna, D., Amir, A. S., Bekhoucha, S. N., Berrazeg, M., & Drissi, M. (2014). Molecular typing and characterization of TEM, SHV, CTX-M, and CMY-2 beta-lactamases in *Enterobacter cloacae* strains isolated in patients and their hospital environment in the west of Algeria. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 44(4), 146–152.

Taćić, A., Nikolić, V., Nikolić, L., & Savić, I. (n.d.).(2017). *ANTIMICROBIAL SULFONAMIDE DRUGS*. 6(1), 58-71

Tomé, A. M., & Filipe, A. (n.d.).(2011). *Quinolones Review of Psychiatric and Neurological Adverse Reactions*. 34(6) ; 465-488.

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

Touati, A., Medboua, C., Touati, D., Denine, R., Brasme, L., de Champs, C., & Beni Messous, C. (2012). CTX-M-15-producing Enterobacteriaceae isolates causing bloodstream infections at the Beni-Messous hospital in Algiers (Algeria) Laboratoire mère-enfant. In *International Research Journal of Microbiology (IRJM)* (Vol. 3, Issue 5).

Touati, A., Talbi, M., Mairi, A., Messis, A., Adjebli, A., Louardiane, M., & Lavigne, J. P. (2020). Fecal Carriage of Extended-Spectrum beta-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*, 26(11), 1383–1389.

Vora, S. and Auckenthaler, R. (2009) Que signifie “beta-lactamases à spectre élargi” en pratique? *Revue Médicale Suisse*, 5, 1991-1994.

Vrancianu, C. O., Gheorghe, I., Dobre, E. G., Barbu, I. C., Cristian, R. E., Popa, M., Lee, S. H., Limban, C., Vlad, I. M., & Chifiriuc, M. C. (2020). “Emerging Strategies to Combat β -Lactamase Producing ESKAPE Pathogens”. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8527.

Walsh, C.(2003). “Where will new antibiotics come from? ”. *Nature Reviews*.(1):65-70

Weist, S., Bister, B., Puk, O., Bischoff, D., Pelzer, S., Nicholson, G. J., Wohlleben, W., Jung, G., & S,ssmuth, R. D.(2002) *Fluorobalhimycin-A New Chapter in Glycopeptide Antibiotic Research***.

Zango UU, Ibrahim M, Shawai SAA, et al. (2019) “A review on β -lactam antibiotic drug resistance”. *MOJ Drug Des Develop Ther*. 3(2):52–58.

Zenati, F., Barguigua, A., Nayme, K., Benbelaid, F., Khadir, A., Bellahsene, C., Hassaine, H., Timimoini, M. (2019). “Characterization of Uropathogenic ESBL- Producing *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in Western Algeria”. *The journal of infection in developing countries*, 13(4): 291-302.

Annexe

Annexe 1 : Profil de résistance des souches collectées.

Code	Espèce	AMC	CTX	CAZ	CZ	FEP	GEN	TOB	CIP	C	FO	COT	IMI
142	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	I	R	S	R	S
172	<i>Escherichia coli</i>	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
223	<i>Escherichia coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S
241	<i>Escherichia coli</i>	S	I	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
267b	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	R	S
287	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	S
440	<i>Escherichia coli</i>	S	R	S	R	R	S	R	I	S	R	S	S
327	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	R	S
367	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S
445	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	R	S
461	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S
494	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S
506	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	R	S	S	R	I	S	S	S	S
537	<i>Escherichia coli</i>	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	S
1700	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	R	S
130	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S
264	<i>Klebsiella sp</i>	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S
302	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S	R	R	R	S	S	S	R	I	S	R	S
866	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S	R	S
360	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
527	<i>Klebsiella oxytoca</i>	S	R	S	R	S	S	S	R	S	S	R	S
1822	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S
152	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
192	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S

267a	<i>Pseudomonas sp</i>	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
292	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S
410	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
501a	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S	S	I	S	S	S	S	I	R	S	S	S
196	<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S
324	<i>enterobacter.sp</i>	S	R	R	R	S	R	R	I	S	S	R	S
400	<i>Enterobacter cloacae</i>	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	R	S
456	<i>Enterobacter cloacae</i>	I	R	S	R	S	R	R	S	S	R	R	S
9	<i>enterobacter.sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
248	<i>Acinetobacter sp</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
356	<i>Acinetobacter sp</i>	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
449	<i>Acinetobacter sp</i>	R	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	S
143	<i>serratia liquefaciens</i>	R	I	S	R	S	S	S	S	I	S	R	S
144	<i>serratia liquefaciens</i>	R	S	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S
430	<i>serratia liquefaciens</i>	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	S
154	<i>Citrobacter sp</i>	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
1753	<i>Citrobacter sp</i>	R	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
271	<i>Proteus mirabilis</i>	S	R	R	R	S	S	S	I	S	R	S	S
501b	<i>Proteus mirabilis</i>	S	S	S	R	S	S	S	I	S	S	R	S
496	<i>Morganella morganii</i>	R	I	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S
3	<i>Yersinia sp</i>	R	S	S	R	I	S	S	S	S	S	R	S
1728	<i>Shigella sonnei</i>	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	S

RÉSUMÉ

Résumé

Un total de 46 souches d'entérobactéries isolées principalement de prélèvements d'ECBU a été collecté au niveau de trois établissements de santé de la ville de Djelfa (un hôpital et deux laboratoires d'analyses). La sensibilité à 12 molécules d'antibiotiques a été testée par la technique standard de diffusion sur gélose, selon les recommandations de CLSI, 2018. *E. coli* était l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux estimé à hauteur de 30%, suivie par *Pseudomonas aeruginosa* (11%) et *Klebsiella pneumoniae* (9%). Les taux de résistance les plus élevés ont été enregistrés à l'encontre de la Céfazoline (72%), de la Cotrimoxazole (54%), de la Céfotaxime (52%), de l'Amoxicilline + acide clavulanique (43%), de la Ciprofloxacine (41%) et du Chloramphénicol (35%). Un isolat d'*E.coli* et un autre de *K. pneumoniae* se sont révélés producteurs de BLSE (4%).

Mots-clés : Entérobactéries, infections urinaires, résistance aux antibiotiques, β -lactamases, BLSE.

Abstract

A total of 46 enterobacterial isolates recovered mainly from urine samples were collected at 3 healthcare institutions in Djelfa city (one hospital and two laboratories). Antimicrobial susceptibility against 12 antibiotics was tested by the disk diffusion method, according to the recommendations of CLSI, 2018. *E. coli* was the most frequently isolated (30%), followed by *Pseudomonas aeruginosa* (11%) and *Klebsiella pneumoniae* (9%). The highest resistance rates were recorded to Cefazolin (72%), Cotrimoxazole (54%), Cefotaxime (52%), Amoxicillin + clavulanic acid (43%), Ciprofloxacin (41%) and Chloramphenicol (35%). One *E.coli* and one *K. pneumoniae* isolates were ESBL producers (4%).

Key words: Enterobacteria, urinary tract infections, antimicrobial resistance, β -lactamases, ESBL.

مُلخَص

جُمعت 46 سلالة من البكتيريا المعوية التي تم عزلها بشكل رئيسي من عينات بول في ثلاث مؤسسات صحية في مدينة الجلفة (مستشفى ومخبرين) ، وأجرى عليها اختبار الحساسية ضد 12 مضادًا حيويًا، وفقًا لتعليمات المعهد الأمريكي للمعايير السريرية والمخبرية لعام 2018. أظهرت النتائج أن بكتيريا *E.coli* كانت الأكثر عزلاً بمعدل 30% تليها بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* 11% ثم *Klebsiella pneumoniae* 9%. سُجّلت أعلى معدلات المقاومة ضد السيفازولين (72%)، الكوتريموكسازول (54%)، السيوفوناكسيم (52%)، الأموكسيسيلين + حمض الكلافولانيك (43%)، السيبروفلوكساسين (41%) والكلورامفينيكول (35%). بالإضافة إلى ذلك، تم الكشف عن سلالتين منتجتين لإنزيمات البيبتالاكتاماز واسعة الطيف (4%): سلالة واحدة من *E.coli* وأخرى من *Klebsiella pneumoniae*.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا المعوية، التهابات المسالك البولية، المقاومة ضد المضادات الحيوية، إنزيمات البيبتالاكتاماز، إنزيمات البيبتالاكتاماز واسعة الطيف.