



# Mémoire de Fin d'Etudes

## Présenté au

**Filière:** Sciences de la Nature et de la Vie

**Département:** Biologie

**Spécialité:** Microbiologie Appliquée

## Réalisé par

**Omara Nafissa**

**Pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER ACADEMIQUE**

## Intitulé :

Les  $\beta$  -lactamases á specter étendu :  
Revue bibliographique & Méthodes de  
détection

Présenté en ligne : 25/09/2020 au jury de soutenance composé de :

<b>Rebhi Abdelghani</b>	Président de jury	Université de Djelfa	MCB
<b>Chenouf Nadia Safia</b>	Promotrice	Université de Djelfa	MAA
<b>Belmahdi Mohamed</b>	Examinateur	Université de Djelfa	MCB
<b>Chenouf Amel</b>	Examinatrice	Université de Djelfa	MAA

*Je dédie ce travail*

**A Mes chers parents OMARA Mohammed et FAKROUNI Khadidja**

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.*

**Mon cher père et ma chère mère,** que Dieu Tout-Puissant vous protège du mal, prolonge votre vie et vous donne santé et bien-être

**A mes très chères sœurs (Sakina , Amina, Nadia, Ikram, khaira)**

*Merci pour votre présence et vos conseils pendant toutes ces années. Pour tout votre amour et pour être toujours là pour moi dans tous les domaines.*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon amour fraternel, de mon profond attachement et mes souhaits de succès et de bonheur pour chacun de vous. Jamais je n'oublierai l'appui que vous me prodiguez chaque fois que j'en ai besoin. Que Dieu vous protège.*

**À mes beaux frères Ibrahim et Zakaria**

*j'apprécie votre soutien tout au long de mes études et je souhaite de tout mon cœur que Dieu vous protège, vous donne la santé et le bien-être, et rend toutes vos journées heureuses.*

**A mon marie BOUKJALFA TAYEB**

*Merci pour votre soutien durant tout mon parcours et votre confiance en moi. Votre présence a toujours été un réel réconfort et a suscité beaucoup d'espoir pour moi. Que Dieu vous bénisse et vous accorde la santé, La prospérité et une vie heureuse !*

**A toute la famille Omara**

**A ma promotrice Dr CHENOUF N**

*Vous n'avez pas cessé de m'encourager. Merci pour les bons moments qu'on a passé ensemble, pour votre soutien et votre serviabilité.*



## **REMERCIEMENTS**

*Nous remercions **ALLAH** le tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté de mener à bien notre travail.*

*Ainsi que nos familles de nous avoir soutenus et supporter pendant notre cursus universitaire.*

**Dr CHENOUF N**

*Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de diriger et d'encadrer ce travail. Nous vous remercions pour votre disponibilité, vos conseils précieux et votre soutien pendant la réalisation de ce mémoire.*

*Nous remercions aussi : le chef de spécialité: Mr **BELMAHDI***

*Nous tenons à remercier tout le personnel du département de la biologie de l'université **ZAINE ACHOUR.***

*En fin à toutes personnes ayant participé de loin ou de près à l'élaboration de ce travail.*



# Table des matières

# Table des matières

---

## Table des matières

<b>Dédicaces</b>	
<b>Remerciements</b>	
<b>Table des matières</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Introduction générale</b> .....	01

### Chapitre (I) : Généralité sur les Entérobactéries

I.1. Définition .....	05
I.2. Taxonomie .....	06
I.3. Habitat .....	06
I.4. Classification .....	06
I.5. Caractères culturels .....	07
I.6. Caractères morphologiques .....	08
I.7. Caractères biochimiques .....	08
I.7.1. Réaction d'oxydase .....	08
I.7.2. Utilisation du Citrate de Simmons .....	09
I.7.3. Recherche de l'uréase .....	09
I.7.4. Recherche de la production d'indole .....	09
I.7.5. Recherche de la lysine de carboxylase et de la lysine désaminase .....	09
I.7.6. Fermentation des sucres, production du sulfure d'hydrogène et de gaz .....	09
I.7.7. Utilisation du malonate .....	10
I.7.8. Test sur milieu au citrate de Christensen .....	10
I.7.9. Recherche de l'acétoïne ou Réaction de Voges-Proskauer .....	10
I.7.10. Recherche de la galactosidase .....	10
I.8. Caractérisation antigénique des espèces .....	11
I.9. Étude des principaux genres .....	12
I.9.1. <i>Escherichia coli</i> .....	12
I.9.2. <i>Klebsiella pneumonia</i> .....	15

## Table des matières

---

I.9.3. <i>Salmonella</i> .....	18
I.9.4. <i>Serratia</i> .....	20
I.9.5. <i>Enterobacter</i> .....	21

### Chapitre (II) :Généralité sur les antibiotiques

II.1. Définition .....	23
II.2. Historique .....	23
II.3. Critères de classification des antibiotiques .....	25
II.4. Mode d'action des antibiotiques .....	25
II.4.1. Action sur la paroi bactérienne .....	25
II.4.2. Action sur la structure de la membrane.....	25
II.4.3. Action sur la synthèse protéique .....	26
II.4.4. Action sur la synthèse de l'ADN.....	26
II.4.5. Autres .....	26
II.5. Classification des antibiotiques.....	27
II.5.1. Les bêta-lactamines .....	27
II.5.1.1. Définition .....	27
II.5.1.2. Mode d'action des $\beta$ -lactamines.....	27
II.5.1.3. Structure .....	28
II.5.1.3.1. Les pénicillines.....	29
II.5.1.3.2. Les céphalosporines .....	29
II.5.1.3.3. Les carbapénèmes .....	30
II.5.1.3.4. Les monobactames .....	30
II.5.1.3.5. Les inhibiteurs des $\beta$ -lactamases .....	30
II.5.2. Les aminosides .....	31
II.5.2.1. Définition .....	31
II.5.2.2. Classification des aminosides.....	32
II.5.2.3. Mode d'action des aminosides.....	32
II.5.3. Les quinolones.....	33
II.5.3.1. Définition .....	33
II.5.3.2. Classification des quinolones .....	33
II.5.3.3. Mode d'action des quinolones .....	34
II.5.4. Rifampicine .....	34

## Table des matières

---

II.5.4.1. Classification .....	34
II.5.4.2. Mécanisme d'action de la rifampicine .....	35
II.5.5. Les tétracyclines .....	35
II.5.5.1. Définition.....	35
II.5.5.2. Mode d'action des tétracyclines .....	35
II.6. La sensibilité aux antibiotiques .....	35

### Chapitre (III) : Les mécanismes de la résistance aux antibiotiques

III.1. Définition de la résistance aux antibiotiques .....	37
III.2. Origine génétique de la résistance et modalités de transfert génétique .....	37
III.2.1. Résistance naturelle .....	37
III.2.2. Résistance acquise .....	38
III.2.2.1. Mutation chromosomique (évolution verticale).....	39
III.2.2.2. Acquisition de gène de résistance (évolution horizontal).....	39
III.2.3. Résistance croisée et Co-résistance .....	41
III.3. Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques .....	42
III.3.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	42
III.3.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique .....	42
III.3.3. Pompes à efflux (l'efflux actif).....	44
III.3.4. Perméabilité réduite .....	45
III.3.5. Protection de la cible de l'antibiotique .....	46
III.3.6. Piégeage de l'antibiotique.....	46
III.4. Bêta-lactamases.....	47
III.4.1. Définition .....	47
III.4.2. Classification.....	48
III.5. Les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) .....	49
III.5.1. Définition .....	49
III.5.2. Les différents types de BLSE.....	50
III.5.2.1. Les BLSE de type TEM.....	50
III.5.2.2. Les BLSE de type SHV .....	51
III.5.2.3. Les BLSE de type CTX-M .....	52
III.5.2.4. Autres types de BLSE.....	52
III.5.3. Facteurs de risque .....	53

## Table des matières

---

III.5.4..Détection des BLSE .....	54
III.5.4.1. Techniques microbiologiques .....	54
III.5.4.2.Techniques moléculaires.....	55

### **Chapitre (IV) : Analyse d'un article de recherche sur les entérobactéries productrices du BLSE dans la région de Djelfa**

IV.1.Objectif .....	63
IV.2.Présentation de l'article .....	63
IV.3.Objectif et originalité de l'étude .....	63
IV.4.Analyse du titre.....	64
IV.5.Analyse du résumé.....	64
IV.6.Analyse de l'introduction .....	64
IV.7.Analyse de Matériel et méthodes.....	65
IV.8.Analyse des Résultats .....	66
IV.9. Analyse de la conclusion .....	68
IV.10. Références bibliographiques.....	68
<b>Conclusion</b> .....	73

**Annexe**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

## La liste des tableaux

---

### La liste des tableaux

**Tableau 01** : les principaux groupes des entérobactéries.....07

**Tableau 02** : Principaux caractères biochimiques de certaines entérobactéries .....11

**Tableau 03** : Grille d'analyse de la rigueur du contenu de l'article étudié.....69

## Liste des figures

---

### Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Structure de l'enveloppe des entérobactéries .....	05
<b>Figure 02</b> : Alexander Fleming .....	24
<b>Figure 03</b> : Cibles des principaux antibiotiques .....	26
<b>Figure 04</b> : structure chimique des principales bêta-lactamines .....	28
<b>Figure 05</b> : Structure de quelques aminosides: le cycle central DOS est indique en bleu. .....	31
<b>Figure 06</b> :Structure de base des quinolones .....	33
<b>Figure 07</b> : Structure de la rifampicine .....	34
<b>Figure 08</b> : Les trois mécanismes de transfert génétique.....	41
<b>Figure 09</b> : Inactivation enzymatique de l'antibiotique .....	42
<b>Figure 10</b> : Modification de la cible de l'antibiotique .....	44
<b>Figure 11</b> : Pompes à efflux.....	45
<b>Figure 12</b> : Les différents mécanismes de la résistance aux antibiotiques .....	47
<b>Figure 13</b> : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle bêta-lactame .....	48
<b>Figure 14</b> : Les BLSE dérivées de TEM.....	51
<b>Figure 15</b> : Les BLSE dérivées de SHV .....	52
<b>Figure 16</b> : analyse des enzymes de la famille SHV par PCR-SSCP .....	57
<b>Figure 17</b> : analyse des enzymes de la famille SHV par PCR-FRLP .....	57
<b>Figure 18</b> : PCR en temps réel.....	60
<b>Figure 19</b> : Protocole expérimental de l'étude.....	66
<b>Figure 20</b> : Titres abordés présentés dans les résultats. ....	68

## La liste des abréviations

---

### La liste des abréviations

- ATB**: Antibiotique.
- ABC** : ATP-binding cassette
- ADN** :Acide désoxyribonucléique
- AMC** : l'acétyl-méthylecarbinol
- ARN** : Acide Ribonucléique
- ARNm** : ARN messenger
- ATP**: Adenosine triphosphate
- A<sub>w</sub>** : Activité D'eau
- BES-1** : brazilian extended spectrum
- BLSE** : Les bêta-lactamases à spectre étendu
- CC** : citrate de Christensen :
- Citr** : citrate
- CLSI** : Clinical Laboratory Standards Institute
- CMI** : Concentration Minimale d'Inhibition
- CS** :Citrate de Simmons
- CTX-M** : Céfotaximase-Munich
- EBLSE**: Entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu.
- EDTA** : Ethylenediamin tetraacetic acid.
- EIEC** :*E. coli* entéroinvasifs
- Entero** :*Enterobacter*
- EPEC** :*E. coli* entéropathogène
- Esch** :*Escherichia*
- Citro** :*Citrobacter*;
- ETEC** :*E. coli* entérotoxinogène :
- Fe<sup>2+</sup>** : Le fer ferreux
- Fe<sup>3+</sup>** : Les ions ferriques
- GES-1** :*Guyana extended spectrum*
- H<sub>2</sub>S** : Hydrogene sulfureux
- IM** : membrane cellulaire (inner membrane)
- Kleb** :*Klebsiella*
- LCR** : La Ligase Chain Réaction
- LPS** : lipopolysccharides

## La liste des abréviations

---

**LT** : Thermolabile :

**MDR** : Multiple-drug-résistance

**Mob** : Mobilité

**Mor** : *Morganella*;

**NAG** : Le N-acétylglucosamine :

**NAM** : L'acide N-acétylmuramique

**OH-** : ions hydroxyle alcalinise

**OM** : Membrane externe (outer membrane)

**OMP** : Protéine de la membrane externe (outer membrane protein).

**ONPG** : Ortho NitroPhenyl Galactoside

**OPG** : Glucanes périplasmique osmo régulés

**PBP** : Penicillin Binding Protein

**PCR** : Polymerase Chain Reaction.

**PER-1** : Pseudomonas extended resistance

**PL** : Phospholipides

**PLP** : Protéines liant les pénicillines

**Prot** : *Proteus*

**Prov** : *Providencia*

**qnr** : Quinolone résistance

**pb** : paire de bases.

**RTX** : Repeats-In-ToXin :

**Salm** : *Salmonella*

**SARM** : Les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline

**SDR** : Specific-drug-résistance

**Serr** : *Serratia*

**SFO-1** : *Serratia fonticola*

**Shig** : *Shigella*

**SHV** : Sulfhydryl variable

**SPATEs** : Serine Protéase Auto Transporters of Enterobacteriaceae

**SSCP** : Single Strand Conformational Polymorphism

**ST** : Thermostable :

**TISS** : Système de sécrétion de type 1 :

**TCC** : Ticarcilline + Acide clavulanique.

**TDA** : Tryptophane désaminase

## La liste des abréviations

---

**TEM** : Temoneira- nom du patient

**TLA-1** : Tlahuicas, tribu mexicaine

**VEB-1** : Vietnam extended spectrum

**VP** : Voges Proskauer

*Yers* : *Yersinia*

# INTRODUCTION

## Introduction générale

---

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

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

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

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

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

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

Jusque dans les années 2000, la diffusion des entérobactéries productrices de BLSE concernait essentiellement le milieu hospitalier, de nombreuses épidémies hospitalières en

## Introduction générale

---

réanimation ou en hospitalisation de longs séjours ayant été décrites (**Arletet al., 1990 ; Lucetet al., 1999**). Mais aujourd'hui, la diffusion à grande échelle dans le domaine communautaire de ce type de résistance laisse augurer un problème majeur de santé publique (**Pitoutetal., 2005**).

Actuellement, la prévalence de BLSE varie selon les pays et les hôpitaux, mais dans tous les cas, les CTX-M (céfotaximase) sont considérées comme le type de BLSE le plus fréquent au monde (**Perez et al., 2007**).

Les gènes CTX-M, naturellement à médiation chromosomique chez les espèces d'entérobactéries du genre *Kluyvera* (*K. ascorbata*, *K. cryocrescens*, *K. georgiana*), transmis aux entérobactéries par un plasmide, s'expriment alors fortement chez ces dernières. Le plasmide, facilement transmissible par conjugaison *in vitro* entre entérobactéries, est l'élément incontournable à l'émergence de BLSE de type CTX-M (**Bonnet, 2004**). Cette propriété explique la dissémination facile des enzymes de type CTX-M dont l'importance augmente par rapport aux autres types de BLSE, notamment TEM et SHV (**Arpinetal., 2007**).

Par ailleurs, La résistance aux céphalosporines de troisième génération n'est plus uniquement liée aux  $\beta$ -lactamases de classe A chez *Klebsiella pneumoniae*, il s'agit aussi de phénotype céphalosporinase de haut niveau qui est associé à l'acquisition d'un gène plasmidique (AmpC) (**Hanson, 2003**), cette résistance a été décrite pour la première fois avec MIR-1 en 1988 (**Papanicolaou et al., 1990**).

Généralement, ces enzymes sont des céphalosporinases plasmidiques de type AmpC, classé dans le groupe 1 de Bush (classe C de Ambler), sont en général fortement exprimées et confèrent des résistances à la majorité des  $\beta$ -lactamines à l'exception des carbapénèmes (**Philippon et al., 2002**).

En Algérie, la fréquence de la résistance des souches d'Entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu isolées du poulet de chair a fait l'objet de plusieurs études. On cite à titre d'exemple : **Messai et al., 2015 ; Belmahdi et al., 2016 ; Chenouf et al., 2020**.

Compte tenu de la situation actuelle liée à l'émergence du covid-19 qui nous a interdit de mener la partie pratique de ce mémoire de fin d'études, l'objectif de ce manuscrit se limite à générer un aperçu bibliographique sur les entérobactéries et les mécanismes de

## Introduction générale

---

résistances bactériennes aux antibiotiques, tout en mettant le point sur les BLSE. Une analyse d'un article de recherche publié récemment sur la prévalence des souches entérobactéries productrices de BLSE dans la région de Djelfa a été réalisée.

# Chapitre (I)

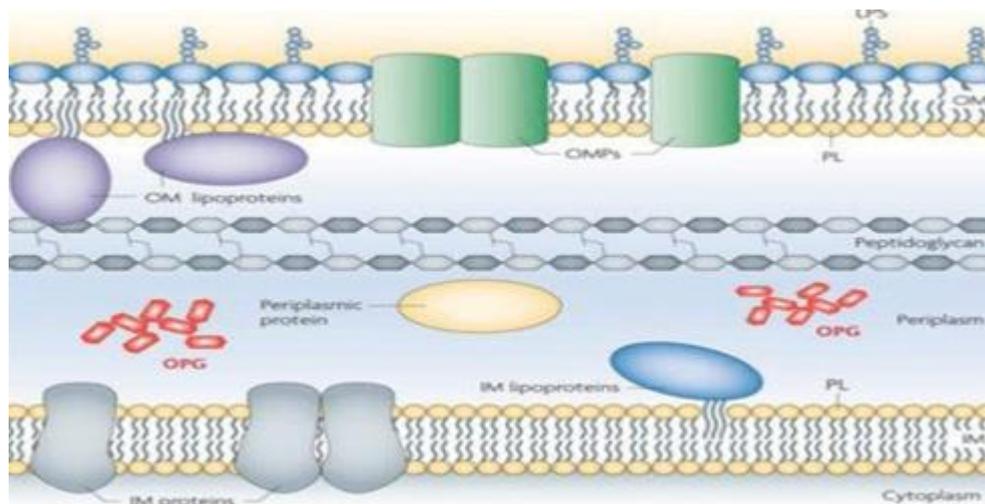
## Généralités sur les entérobactéries

## Chapitre I

### Généralités sur les entérobactéries

#### I.1.Définition

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries à Gram-négatif (figure 1) , qui sont à l'origine de maladies de gravité très variable, en raison de mécanismes pathogéniques distincts. Il s'agit d'une famille hétérogène qui se compose d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces. Cependant, tous ces germes ont en commun leur localisation préférentielle au niveau du système digestif, certains faisant d'ailleurs partie de la flore normale, bien qu'ils soient également présents dans l'environnement (Ndiaye, 2005; Khayar, 2011).



**Figure1** :Structure de l'enveloppe des entérobactéries (Ruiz et al., 2009).

IM : membrane cellulaire (inner membrane), OM : membrane externe (outer membrane), PL : phospholipides, OPG : glucanespéri plasmiques osmorégulés, LPS : lipopolyscharides, OMP : protéine de la membrane externe (outer membrane protein).

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

Les espèces d'entérobactéries les plus incriminées dans les infections sont : *Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae*, *Enterobactercloacae*, *Citrobacterfreundii*. Pour cela, il semble nécessaire de rappeler brièvement quelques caractéristiques générales de ces bactéries et les types d'infections qu'elles génèrent. (**Madigan et Martinko, 2007**).

## **I.2.Taxonomie**

Les entérobactéries appartiennent au règne des bactéries, à l'embranchement des Protéobacteria, à la classe des Gamma-protéobacteria, à l'ordre des Enterobacteriales et à la famille des Enterobacteriaceae. Leur classification est basée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (fermentation de différents sucres, production ou non de sulfures, présence ou absence de certains enzymes du métabolisme) et/ou génotypiques (ribotypage, hybridationADN/ADN). Les entérobactéries qui intéressent la bactériologie médicale peuvent être regroupées en 4 tribus *Escherichia*, *Klebsiellae*, *Proteae* et *Yersinia* (**Denis, 2007**).

## **I.3.Habitat**

*E. coli* est une bactérie commune de la microflore commensale intestinale de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux) (**Gordon DM, Cowling A., 2003 ; Kaper JB et al ., 2004** ). Elle colonise de manière asymptomatique le tractus digestif de l'Homme dans les premières heures qui suivent la naissance et constitue dès lors l'espèce bactérienne dominante de la flore anaérobie facultative du colon humain (**Freter R et al ., 1983 ; Berg RD., 1996**). Sa niche écologique se trouve dans la couche de mucus sécrétée par l'épithélium du côlon où elle assure, avec les autres composants de la microflore, une barrière de protection de la muqueuse (**Poulsen LK et al., 1994**). La concentration en *E. coli* par grammes de selles varie d'un individu à un autre de 10<sup>7</sup> à 10<sup>9</sup> unités formant des colonies (UFC). Elle est plus faible chez les autres mammifères (**Tenaillon O et al ., 2010**). *E. coli* peut transiter dans l'eau et les sédiments. Il est utilisé comme un indicateur de la contamination fécale de l'eau. On estime que la moitié de la population totale des *E. coli* réside au niveau de ces habitats secondaires environnementaux (**Savageau M., 1983**), au sein desquels certaines souches peuvent être sélectionnées et disséminer naturellement (**Power ML et al ., 2005**). *E. coli*, et plus largement les coliformes thermo-tolérants, sont également recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale.

#### I.4. Classification

La famille des entérobactéries comprend 100 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* (Perriere, 1992).

Cette classification est résumée dans le tableau suivant :

**Tableau 1 :** Principaux groupes des entérobactéries.

Groupes	Familles	Genres	Espèces
<b>Groupe I</b>	Edwardsielleae	Edwardsiella	
	Salmonelleae	Salmonella	<i>S.typhi</i> <i>S. paratyphi</i> <i>S. enteritidis</i>
<b>Groupe II</b>	Escherichiae	Escherichia	<i>E. coli</i>
		Shigella	<i>S.dysenteriae</i> <i>S.flexneri</i> <i>S.boydii</i> <i>S.sonnei</i>
	Levineae	Levinea	
<b>Groupe III</b>	Klebsielleae	Klebsiella	<i>K.pneumoniae</i> <i>K. oxymore</i>
		Enterobacter	<i>E.aerogen</i> <i>E.cloaceae</i>
		Serratia	<i>S.marcescens</i>
		Erwinia	
<b>Groupe IV</b>	Proteae	Proteus	<i>P. mirabilis</i> <i>P. vulgaris</i> <i>P.rettgerii</i>
		Providencia	
<b>Groupe V</b>	Yersinieae	Yersinia	<i>Y.enterolitica</i> <i>Y.pseudotuberculosis</i>

**Source :** Perriere, 1992.

#### I.5. Caractères cultureux

A l'exception de certaines bactéries exigeantes qui nécessitent pour leur croissance un ou plusieurs facteurs de croissance, les entérobactéries sont des aérobies-anaérobies facultatives qui se développent facilement sur des milieux de cultures ordinaires.

La température optimale de croissance est habituellement entre 35° à 37°C et le temps de division moyen varie de 20 à 40 min avec donc un maximum de culture atteint habituellement en moins de 24h d'incubation.

Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries peuvent prendre différents aspects (Exemple : L'espèce *Klebsiella pneumoniae* forme, sur gélose, de grandes colonies muqueuses et luisantes avec une tendance à la confluence). (Ferron A ,1984 et Pilet C *et al.*,1997)

Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leur chaîne métabolique. Elles ne sont pas exceptionnelles chez *Escherichia coli* isolé d'infections urinaires (Avril *et al.*, 2000).

### **I.6.Caractères morphologiques**

Les entérobactéries sont polymorphes avec des tailles variant de 2 à 3 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. Les espèces mobiles, les plus nombreuses, le sont grâce à une ciliature péritriche tandis que certaines sont immobiles (Abbott, 2007). Quelques-une possèdent une capsule visible au microscope et la plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des *fimbriae* ou *pili* qui sont considérés comme des facteurs d'adhésion (Drame, 2001 ; Bakhoum, 2004).

### **I.7. Caractères biochimiques**

La distinction entre les genres et les espèces se fait par l'étude d'un ensemble de caractères biochimiques qui sont : l'utilisation du citrate de Simmons comme seule source de carbone, la production d'uréase, la capacité à fermenter le glucose, la capacité à réduire les nitrates en nitrite, la fermentation du lactose, la production d'indole, la production d'acétoïne et la désamination du tryptophane (Avril *et al.*,2000).

#### **I.7.1.Réaction d'oxydase**

La mise en évidence de la production du cytochrome C oxydase à partir du test d'oxydase est essentielle pour orienter l'identification des bacilles à Gram-négatif. Il permet de différencier dans le grand groupe des bacilles à Gram-négatif, la famille des Entérobactéries de celles des Pseudomonaceae et des Vibrionaceae(Niang, 2003). Le test d'oxydase est souvent réalisé à l'aide des disques d'oxydase imprégnés du réactif

chlorhydrate ou d'oxalate de N-dimethylparaphénylene diamine ou PDA. Si une bactérie possède l'enzyme respiratoire cytochrome C oxydase, la forme oxydée rose violacée du PDA est produite à partir de la forme réduite incolore(Niang, 2003).

#### **I.7.2. Utilisation du Citrate de Simmons**

L'utilisation du Citrate de Simmons (CS) comme seule source de carbone par les bactéries se traduit par une alcalinisation du milieu qui correspond au virage de l'indicateur coloré du vert au bleu (Avril et al.,2000).

#### **I.7.3. Recherche de l'uréase**

Les bactéries possédant une uréase active scindent l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac. Ceux-ci en se combinant donnent du carbonate d'ammonium. Le carbonate d'ammonium formé alcalinise le milieu, ce qui se traduit par le virage de l'indicateur coloré de l'orange au rose (Avril et al.,2000).

#### **I.7.4. Recherche de la production d'indole**

Certaines bactéries dégradent le tryptophane grâce à une tryptophanase. Il se forme de l'indole, de l'acide pyruvique et de l'ammoniac. L'indole est apolaire et réagit fortement avec le para-diméthylamino- benzaldéhyde (réactif de Kovacs) en milieu acide pour donner un anneau rouge qui remonte en surface (Drame, 2001).

#### **I.7.5. Recherche de la lysine decarboxylase et de la lysine désaminase**

Le milieu lysine de fer est un milieu qui contient la lysine, du glucose, du fer. Les réactions se déroulent en anaérobiose (dans le culot) et en aérobie (au niveau de la pente) avec production de désaminases. Ces désaminases sont des enzymes induites qui agissent sur les acides aminés en entraînant la formation des acides cétoniques correspondants. Les acides cétoniques ont la propriété de donner des complexes colorés avec les ions ferriques ( $Fe^{3+}$ ). Le virage de la pente du violet au jaune traduit la production d'une lysine désaminase par la bactérie. Par contre, l'absence de virage du culot traduit la production d'une lysine décarboxylase par la bactérie(Bakhoun,2004).

#### **I.7.6. Fermentation des sucres, production du sulfure d'hydrogène et de gaz**

Le milieu Kligler-Hajna est un milieu de culture permettant la recherche simultanée de la

fermentation du glucose, du lactose; la production du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) et la production de gaz. La fermentation du glucose par la bactérie est mise en évidence par le virage du culot du rouge au jaune tandis que le virage de la pente au jaune indique la fermentation du lactose. Par ailleurs, la production de sulfure d'hydrogène est mise en évidence par une coloration noire dans le culot et la présence de bulles d'air ou le décollement du culot indique la production de gaz (Avril *et al.*,2000).

#### **I.7.7. Utilisation du malonate**

Le malonate inhibe le cycle de Krebs (inhibition de la succinate déshydrogénase). Seules les bactéries qui peuvent utiliser le cycle glyoxalique sont capables de se développer sur un milieu au malonate. L'utilisation du malonate s'accompagne d'une libération d'ions hydroxyl (OH<sup>-</sup>) alcalinisant (Avril *et al.*,2000).

#### **I.7.8. Test sur milieu au citrate de Christensen**

A la différence du citrate de Simmons, le milieu citrate de Christensen (CC) contient une faible quantité de glucose, d'extrait de levure et une source d'azote organique. Dans ces conditions, certaines bactéries qui n'utilisent pas le citrate de Simmons sont capables d'utiliser le citrate de Christensen. La formation d'ions hydroxyle (OH<sup>-</sup>) alcalinise le milieu (virage du jaune au rose) (Joly *et Reynaud*, 2007).

#### **I.7.9. Recherche de l'acétoïne ou Réaction de Voges-Proskauer**

La formation de l'acétyl-méthylecarbinol (AMC) ou acétoïne se fait soit à partir de deux molécules d'acide pyruvique, soit à partir du glucose. En présence d'une base forte, l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygène (oxydation en diacétal) (Avril *et al.*,2000).

#### **I.7.10. Recherche de la galactosidase**

Le test à l'Ortho-NitroPhenyl β-D-Galactopyranoside (ONPG) permet la recherche de la β-galactosidase qui est une enzyme qui intervient dans le métabolisme du lactose. L'utilisation du lactose par la bactérie requiert deux enzymes à savoir le lactose perméase qui permet au lactose de pénétrer dans la bactérie et la β-galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose. La β-galactosidase est une enzyme inductible, c'est-à-dire qu'elle n'est synthétisée par la bactérie que lorsque celle-ci est en

présence de son substrat. L'ONPG est un substrat synthétique, de structure proche du lactose, capable de pénétrer dans la bactérie sans perméase(Avril et al.,2000).

Les caractères biochimiques différentiels de certaines entérobactéries sont illustrés dans le tableau 2.

**Tableau 2:** Principaux caractères biochimiques de certaines entérobactéries.

	<i>Esch</i>	<i>Citro</i>	<i>Entero</i>	<i>Kleb</i>	<i>Serr</i>	<i>Salm</i>	<i>Shig</i>	<i>Prot</i>	<i>Prov</i>	<i>Yers</i>	<i>Morg</i>
<b>Glucose</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Lactose</b>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<b>ONPG</b>	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+	-
<b>Indole</b>	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-	+
<b>VP</b>	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<b>Citr</b>	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-	-
<b>Mob.</b>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
<b>Urée</b>	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
<b>TDA</b>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
<b>H2S</b>	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-	+

**Source :**Decoster et Lahieu, 2006.

ONPG = Ortho NitroPhenyl Galactoside ; VP = Voges Proskauer ; Citr = citrate ; Mob = mobilite ; TDA = Tryptophane desaminase ; H2S = Hydrogene sulfureux ; *Esch*= *Escherichia* ; *Citro*= *Citrobacter*; *Entero*= *Enterobacter*; *Kleb*= *Klebsiella*; *Serr*= *Serratia*; *Salm* = *Salmonella* ; *Shig* = *Shigella*; *Prot*= *Proteus*; *Prov*= *Providencia*; *Yers*= *Yersinia* ; *Morg*= *Morganella*; (+) = positif ; (+/-) = variable ; (-) = négatif .

### **I.8.Caractérisation antigénique des espèces**

L'identification des entérobactéries se fait par l'étude des caractères biochimiques. La détermination du sérotype ne peut être entreprise que pour des souches dont

l'identification est certaine. Toute autre façon de faire ne peut qu'entraîner des erreurs du fait d'agglutinations croisées non spécifiques (Avril et al.,2000).

- **Antigènes O**

Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistent à l'alcool ou l'acide. Les réactions d'agglutination se produisent lentement et sont constituées d'agglutinats granulaires, difficilement dissociables par agitation. La spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau distillée(Avril et al.,2000).

- **Antigènes H**

Ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont donc présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine nommée la flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool. Les réactions d'agglutination se produisent et sont constituées d'agglutinats floconneux, facilement dissociables par agitation (Avril et al.,2000).

- **Les Antigènes K**

Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharide. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d'*E. coli* et l'antigène Vi de certains *Salmonella* ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche qui les possède inagglutinable par les antisérums O ; ils sont détruits par une ébullition de 2heures. Les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88, K99) (Avril et al.,2000).

- **L'antigène Kunitz**

Cet antigène commun des entérobactéries n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique (Avril et al.,2000) .

## I.9. Etude des principaux genres

### I.9.1. *Escherichia coli*

#### ▪ Définition

Isolee pour la premiere fois par Escherich en 1885, *Escherichia coli* est l'espece bacterienne qui a ete la plus etudiee pour des travaux de physiologie et de genetique. Elle represente l'espece type du genre *Escherichia*. Appelee communement « colibacille », cette espece possede certains caracteres bacteriologiques (Avril *et al.*, 2000).

#### ▪ Habitat

*E. coli* est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux (Sutra *et al.*, 1998). Il represente à lui seul la plus grande partie de la flore bacterienne aerobie del'intestin (espece aerobie dominante) à raison de  $10^8$  par gramme de feces (flore totale  $10^{11}$  à  $10^{12}$  bacteries par gramme) (Paul, 2005).

#### ▪ Pouvoir pathogene

*Escherichia coli* est l'une des especes bacteriennes le plus souvent rencontree en pathologie humaine. Elle regroupe des souches commensales de l'intestin de l'homme et des animaux de même que des souches responsables de pathologies intestinales comme les diarrhee aigues (Freney *et al.*, 2000). Certaines souches de *E. coli* sont impliquees dans plusieurs infections extra-intestinales importantes de l'homme telles que les infections urinaires, abdominales et meningees (Fauchere et Avril, 2002). *E. coli* est le micro-organisme le plus frequemment implique dans plusieurs infections urinaires acquises en ville. Il est egalement responsable d'infections nosocomiales, notamment des infections des plaies chirurgicales et des bacteriemies (Alain et Bernard, 2002). Les souches de *E. coli* pathogenes peuvent etre sepees en deux grands groupes en fonction du type d'infection dont elles sont a l'origine. Le premier groupe nomme *E. coli* pathogenes intestinaux (IntEC) est a l'origine de syndromes diarrheiques et comprend six groupes pathogenes ou pathovars. Il s'agit des *E. coli* enterotoxinogenes (ETEC), des *E. coli* enterohemorragiques (EHEC), des *E. coli* enteroagregatifs (EAEC), des *E. coli* a adhesion diffuse (DAEC), des *E. coli* enteropathogenes (EPEC) et des *E. coli* enteroinvasifs (EIEC). Le deuxieme groupe, nomme ExPEC pour *E. coli* pathogenes extra-intestinaux,

comprend les souches à l'origine d'infections du tractus urinaire (Uropathogenic *E. coli* ou UPEC), les souches à l'origine de méningites et de septicémies (neonatal meningitis *E. coli* ou NMEC) et le pathovar animal aviaire (APEC) (Nataro et Kaper, 1998).

- **Facteurs de pathogénicité d'*E. coli***

### **1-Fimbriae**

Les fimbriae aussi connu sur le nom de pili sont des hétéro polymères d'environ 1µm de longueur et de diamètre allant de 5 à 10 nm (Kaper et al.,2004). Les UPEC expriment plusieurs fimbriae, tels que des fimbriae de type 1, des fimbriae de type P, des fimbriae F1C et des fimbriae S. Ils sont nécessaires à la bactérie pour promouvoir la colonisation des surfaces. Chaque souche peut exprimer différents types de fimbriae selon leur contenu génétique et les phases où la bactéries trouve (High, 1988).

### **2-Auto-transporteurs**

Les auto-transporteurs sont une famille de protéines capables de s'auto sécréter à travers la membrane d'une bactérie à Gram-négatif grâce à un mécanisme appelé sécrétion de type V. Il existe différents auto-transporteurs dont des toxines, des hémagglutinines, des cytotoxines et les SPATEs(Serine Protéase AutoTransporters of Enterobacteriaceae) (Restierietal.,2007).

### **3-Hémolysine**

L'hémolysine est une toxine 'Repeats-In-ToXin' (RTX). Les toxines RTX sont produites par des bactéries à Gram-négatif et sont caractérisées par des répétitions dans la séquence protéique ainsi que par un système de sécrétion de type 1 (T1SS). Les fragments des séquences répétées sont riches en aspartate et glycine. Ils se situent en C-terminal, ce qui facilite le transport par le système de sécrétion. Les toxines RTX sont composées d'un regroupement de gènes comprenant la toxine RTX, une acyltransférase permettant l'activation de la toxine et les protéines du système de sécrétion de type 1. Ces gènes sont typiquement localisés sur des îlots de pathogénicité (Smith et al., 2015).

### **4-Sidérophores**

Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire (500 à 1500 Daltons)

ayant une forte affinité pour le fer ferrique (fer oxyde). Ce sont des chélateurs de fer qui permettent l'obtention de fer par la bactérie pour ses besoins physiologiques. Les sidérophores sont des facteurs de virulence essentiels dans la plupart des bactéries pathogènes à Gram-négatif. Le fer est nécessaire à la bactérie ; cependant, il est difficile d'accès. Le fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) étant toxique et le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) insoluble, il n'y a que très peu de fer libre disponible chez l'hôte infecté. Les bactéries sont donc en compétition entre elles pour le capturer, mais aussi en compétition avec les systèmes de défense de l'hôte tels que la transferrine et la lactoferrine (**Holden et Bachman, 2015**).

### **I.9.2. *Klebsiella pneumoniae***

#### **▪ Définition**

Connue autrefois sous le nom de pneumobacille de Friedlander, *Klebsiella pneumoniae* est une bactérie commensale de l'intestin, des voies respiratoires et des animaux(**Drancourt,2007**). Chez l'homme, elle est l'agent responsable des pneumopathies aiguës, d'angines, d'otites, de cystites et d'affections rénales(**Avril et al.,2000**).

Ce sont des bactéries immobiles capsulées et très polymorphes. Sur gélose, les colonies de type mucoïde ont un aspect caractéristique ; elles sont volumineuses, bombées, brillantes, opaques et souvent confluentes. En bouillon, on note la formation d'un trouble dense avec collerette visqueuse(**Avril et al.,2000**).

#### **▪ Taxonomie**

Le genre *Klebsiella* a été nommé par Trévisan en 1887 pour honorer Klebs Edwin, un microbiologiste Allemand du 19<sup>ème</sup> siècle. L'espèce type est *K. pneumoniae*, connue autre fois sous le nom de pneumo bacille de Friedlander. Ce dernier avait décrit cette bactérie dans les poumons d'un patient décédé d'une pneumonie(**Belbel, 2013**).

Le genre *Klebsiella* comporte actuellement cinq espèces et *K. pneumoniae* comportent 3 sous espèces: *K. pneumoniae subspPneumoniae*, *K. pneumoniae subspozanae* et *K.pneumoniae subspRhinoscleromatis*; *Klebsiellaoxytoca*; *Klebsiella ornithinolytica*; *Klebsiella terrigena* et *Klebsiella planticola*. (**Abid et al., 2007**). *K. pneumoniae* est une espèce ubiquitaire, et fréquemment isolée de l'environnement(eaux usées, sol,...etc.) et

de la flore commensale du tube digestif et des voies respiratoire supérieures (**Bagley et al., 1978 ; Avril et al.,2000**).

- **Habitat**

Elles sont retrouvées fréquemment dans le sol, les eaux de surface ou eaux usées et les végétaux. Elles se fixent sur les plantes, notamment au niveau des racines ; et fixent à leur niveau l'azote atmosphérique. *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont régulièrement présentes dans le tube digestif de l'homme et des animaux. Elles sont isolables en quantité significative ( $>10^4$  bactéries par gramme) dans 30% des selles d'individus n'ayant aucune pathologie digestive(**Joly et Reynaud, 2003**).

- **Pouvoir pathogène de *K. pneumoniae***

*Klebsiella pneumoniae* est un germe opportuniste, responsable d'infections diverses infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires qui peuvent être à l'origine de bactériémie et surtout de septicémie de pronostic sévère, principalement chez les malades immunodéprimés, cancéreux, brûlés, cirrhotiques, diabétiques, chez les vieillards, nourrissons, nouveau nés et prématurés (**Stone et al., 2003 ; Sahly et al.,2004**). Il est responsable de plus de 10% des infections nosocomiales (**Chung et al.,1992 ; Podschun et Ullmann, 1998**).

- **Facteurs de pathogénicité de *K.pneumoniae***

Cinq types de facteurs sont retrouvés chez *K. pneumoniae* (**Podschun et Ullmann, 1998**).

### **1 - Antigènes de surface**

Deux types d'antigènes sont exprimés à la surface de *K. pneumoniae*. Ces deux antigènes contribuent à la pathogénie de cette bactérie. Le premier est l'antigène "O" qui est le composant du liposaccharide (LPS) et dont 8 types ont été identifiés. Le second est l'antigène capsulaire (K), un polysaccharide capsulaire dont 82 ont été décrits et 77 caractérisés (**Dabernat et al.,1997**).

### **2- Adhésines**

Différentes adhésines ont été mises en évidence chez *K. pneumoniae*. Les adhésines sont des molécules qui jouent un rôle essentiel dans la première étape du processus infectieux

(**Dabernat et al., 1997**).

Les propriétés d'adhésion de ces bactéries sont généralement médiées par différents types de pili ou fimbriae. Les pili ou fimbriae sont des structures protéiques non flagellaires et filamenteuses formant des appendices à la surface des bactéries qui ont la capacité d'agglutiner les sérythrocytes (**Gassama, 2004**).

Ils sont formés de différentes sous-unités. Les deux types de fimbriae les plus rencontrés chez *K.pneumoniae* sont le type 1 et le type 3 (**Gassama, 2004**).

- Les fimbriae de type 1 sont les mieux connues et sont présents chez la majorité des entérobactéries. Ils ont la plus grande capacité d'adhésion et sont impliqués dans la colonisation des tractus respiratoire et urinaire (**Struve, 2008**).
- Les propriétés des fimbriae de type 3 sont moins connues. Ils sont impliqués dans l'adhésion de *K. pneumoniae* à différents types cellulaires, par exemple aux épithéliums urinaires et respiratoires. Leur rôle comme facteur de virulence reste hypothétique dans plusieurs modèles d'infections (urinaire, pulmonaire). Néanmoins, du fait que ces structures semblent faciliter l'adhésion à des supports inertes et avoir un rôle dans la formation de biofilm, elles pourraient participer à la physiopathologie des infections urinaires sur sonde (**Sebghati, 1998**).

### **3- Sidérophores**

Comme il a été déjà évoqué précédemment, les sidérophores sont des structures particulières qui permettent aux bactéries de capter le fer environnant qui est associé à des glycoprotéines telles que la transferrine et la lactoferrine. En effet, le fer est essentiel à la croissance et à la réplication *in vivo* des bactéries et joue un rôle dans l'installation et la progression de l'infection (**Dabernat et al., 1997**).

### **4 - Ilot de pathogénicité**

C'est un grand fragment chromosomique d'ADN de 35 à 45 kb qui porte les gènes de virulence, en particulier le locus de la yersinia actine indispensable à l'expression du phénotype hyper-virulent de *Yersinia sp*. Il s'insère au niveau de la terminaison 3' du gène de l'ARN detransfert. Cet ilot contient de nombreux gènes dont le locus de la yersinia bactine qui a pour fonction essentielle de capter les molécules de fer nécessaires à la

croissance et à la dissémination de la bactérie (Carniel, 1999).

### I.9.3. *Salmonella*

#### ▪ Définition et habitat

Les *Salmonella* sont des entérobactéries dont les caractères essentiels sont de ne pas fermenter le lactose et de ne pas produire d'uréase (Leyral et Vierling, 2001). Les *Salmonella* sont des parasites de l'homme, des mammifères (rongeurs), des oiseaux (volailles) et des animaux à sang froid (reptiles). Elles sont responsables, après pénétration par voie orale, de nombreuses infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes (maladies à déclaration obligatoire n° 1), des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives (maladies à déclaration obligatoire n° 12). Le principal mode de contamination chez l'homme est l'ingestion à partir de l'eau (*S. typhi* surtout), des aliments (ex. produits laitiers, œufs, viandes) ou d'animaux familiers porteurs (tortues) (Paul, 2005).

#### ▪ Classification

Les travaux récents de taxonomie, en particulier par hybridation de l'ADN, ont permis de conclure que le genre *Salmonella* se divise en deux espèces bien distinctes. La première est *Salmonella enterica*, espèce majoritaire, qui se divise en six sous-espèces: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* et *indica*. La sous-espèce *S. enterica subsp. enterica* est elle-même divisée en plusieurs sérovars: Dublin, Enteritidis, Infantis, Paratyphi, Typhi, Typhimurium, Virchow, ...etc. La deuxième espèce est *Salmonella bongori* qui correspond à l'ancienne sous-espèce V de *S. enterica* et ne représente qu'1% du genre, rarement isolée (Le Minor, 1989 ; Paul, 2005). Les sérovars étaient auparavant considérés comme des espèces distinctes (Grimont et Grimond, 1986).

#### ▪ Pouvoir pathogène naturel

### 1- Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes

#### • Etiologie

Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes sont provoquées par quatre sérovars de *Salmonella*, strictement humains, antigéniquement distincts mais de pouvoir pathogène similaire *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* et *S. Paratyphi C*. Ces *salmonella* sont dites

majeures en raison de la gravité de la pathologie qu'elles provoquent (**Le Minor, 1989**).

- **Physiopathologie**

Les salmonelles sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé. La dose infectante serait de l'ordre de  $10^5$  bactéries (**Frenot et Vierling, 2001**). Elles traversent sans léser la paroi intestinale et gagnent les ganglions mésentériques satellites où elles vont se multiplier. Une partie des *Salmonella* se lyse et libère leur endotoxine. Celle-ci provoque des signes cliniques (fièvre, tymphos, bradycardie) et biologiques (leucopénie) et une irritation des plaques de PEYER qui peut entraîner des hémorragies intestinales et des perforations. A partir des ganglions mésentériques, par le canal thoracique, des *Salmonella* gagnent le courant sanguin (hémoculture positive), et disséminent dans tous les organes (reins, foie, vésicule biliaire) et sont excrétées en faible nombre et de manière intermittente dans les selles (coproculture positive). Finalement, l'organisme infecté produit des anticorps contre les antigènes bactériens (sérodiagnostic positif), qui contribuent à la guérison spontanée de la maladie. Sans traitement, la mortalité est d'environ 20 % (**Le Minor, 1989**).

- **Gastro-entérites à *Salmonella***

Les *Salmonella* dites « mineures » (*Salmonella typhimurium*, *enteritidis*, *dublinetc...*), ubiquitaires, sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé (cas sporadiques) ou après contamination féco-orale, souvent par les mains sales (épidémies de collectivités d'enfants). Il peut s'ensuivre des infections purement digestives, les gastro-entérites. Celles-ci se traduisent par de la diarrhée, des vomissements et de la fièvre. Leur évolution est en général bénigne. Certains sujets restent porteurs sains de *Salmonella* dans leur tube digestif et peuvent dans certaines circonstances (profession de l'alimentation) disséminer leur souche. Le diagnostic biologique des gastro-entérites repose sur l'isolement de la *Salmonella* par coproculture (**Le Minor, 1989**).

#### **I.9.4. *Serratia***

- **Définition**

Toutes les *Serratia* possèdent une gélatinase et une DNase sauf (*S. fonticola*) (**Denis et Ploy, 2007**). D'une manière générale, les espèces de ce genre sont isolées des

plantes(légumes, champignons, mousses), du tube digestif des rongeurs (40% des petits mammifères sauvages sont porteurs de *Serratia spp.*), des insectes, de l'eau et du sol (Euzéby, 2003).

- **Pouvoir pathogène**

Le genre *Serratia* comprend maintenant dix espèces *S. marcescens*, *S. liquefaciens*, *S. proteomaculans*, *S. grimesii*, *S. plymuthica*, *S. rubidaea*, *S. odorifera*, *S. ficaria*, *S. fonticola*, et *S. entomophila*(Sekhsokh et al.,2007). La principale espèce pathogène du genre est *Serratia marcescens* qui provoque habituellement des infections nosocomiales. Toutefois, des souches de *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. rubidaea* et *S. odorifera* ont causé des maladies à travers des infections (Basilio, 2009).

### **I.9.5. Enterobacter**

- **Définition**

Les *Enterobacter* sont des bacilles à Gram-négatif généralement mobiles, fermentent ou non le lactose et ils ont une  $\beta$ -galactosidase (Fauchère et Avril, 2002).

- **Caractères bactériologiques**

*E. cloacae* est anaérobie facultatif mesurant 0,6 à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre et 1,2 à 3  $\mu\text{m}$  de longueur. Il se déplace grâce à des flagelles péritriches et est doté de pilus de classe 1 (Hart,2006). Sur gélose nutritive, *E. cloacae* forme des colonies rondes avec un diamètre de 2 mm et légèrement plates avec des bords irréguliers (Grimont et Grimont, 2006).

- **Caractères biochimiques**

*E. cloacae* produit un acide à partir de la fermentation du glucose, donne une réaction négative à l'épreuve au rouge de méthyle et une réaction positive au test de Voges Proskauer. La température optimale de sa croissance est de 30 °C (Hart, 2006).

- **Pouvoir pathogène**

Différentes espèces constituent ce genre. Certains n'ont jamais été associés à des infections humaines. Les espèces les plus souvent isolées incluent *E. cloacae* et *E. aerogenes*, suivie par *Enterobacter sakazakii*. Les espèces du genre *Enterobacter*, en

particulier *E.cloacae* et *E.aerogenes*, sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses, y compris la bactériémie, les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intra-abdominales et ophtalmiques, l'arthrite septique et les ostéomyélites (**Fraser et al.,2010**). *E.sakazakii* est l'agent d'infections rares mais sévères touchant particulièrement les très jeunes enfants, les personnes âgées et les sujets immunodéprimés. Cette espèce se différencie des autres *Enterobacter* par son pigment jaune (**Leclercq, 2006**).

# Chapitre II

## Généralités sur les antibiotiques

## Chapitre II Généralités sur les antibiotiques

### II.1. Définition

Un antibiotique peut être défini comme étant tout composé chimique d'origine naturelle, semi synthétique ou synthétique qui, en solution très diluée, est capable de détruire les microorganismes ou d'inhiber leur croissance (**Van Bambeke et Tulkens, 2008**). Il doit avoir une toxicité sélective envers l'agent infectieux sans toutefois affecter l'organisme hôte infecté par les germes pathogènes (**Gautier, 2007**). La spécificité d'action des antibiotiques s'appuie sur les différences métaboliques et structurales existantes entre les cellules procaryotes et eucaryotes. L'ensemble des bactéries affecté par un antibiotique donné est appelé le spectre d'activité de cet antibiotique. Les antibiotiques efficaces contre de nombreuses bactéries à Gram positif et à Gram négatif sont dits à "large spectre", tandis que ceux actifs uniquement contre certaines bactéries à Gram positif ou négatif sont dits à "spectre étroit" (**Walsh, 2003**).

### II.2. Historique

Tout semble avoir commencé en 1889 où l'Allemand Rudolf Emmerich a été le premier à effectuer des essais cliniques sur une substance antibiotique, la pyocyanase. Découverte par hasard un an auparavant, cette substance avait la capacité de détruire de nombreuses bactéries pathogènes, dont celles de la fièvre typhoïde, du charbon, de la diphtérie, de la peste, ...etc. Cependant, l'intérêt soulevé par cette découverte est retombé rapidement car le médicament étant instable et toxique. Il a été cantonné à des utilisations externes sous forme de pommade pour les dermatoses. Quelques années plus tard, Paul Ehrlich a obtenu de bons résultats sur la syphilis avec un colorant associé à de l'arsenic, le salvarsan. Mais la toxicité de la substance et ses effets secondaires importants ont relativisé cette efficacité. Le milieu médical fourmillait alors de découvertes ponctuelles, d'essais cliniques, de pistes explorées puis abandonnées. La chimiothérapie semblait de voir émerger comme une révolution dans l'art de traiter les maladies, mais il restait encore aux médecins à trouver le médicament «miracle», à la fois efficace et sans effets négatifs, car l'enthousiasme du public risquait de disparaître (**Broun, 2004**).

En 1887, le Français Ernest Duchesne a été le premier à remarquer le pouvoir antibactérien des moisissures du genre *Penicillium* et à envisager des possibilités thérapeutiques. Mais son travail, encore trop précurseur, n'a pas eu de suite. En 1928, à l'hôpital Sainte-Marie de Londres, le docteur Alexander Fleming a redécouvert ce phénomène (figure 2). Alors qu'il effectuait des recherches sur les staphylocoques, il a remarqué dans l'une de ses boîtes de Pétri, que les colonies de staphylocoques proches de la moisissure *Penicillium* étaient mortes. Il a été le premier à publier un article sur les effets antibactériens de la pénicilline (**Broun, 2004**).



**Figure 2** : Alexander Fleming(**Brown, 2020**)

Quelques années plus tard, Howard Florey, Ernst Chain et Norman Heatley ont étendu les travaux de Fleming et ils ont réussi à faire produire et à purifier la pénicilline, prouvant ainsi son intérêt en tant que médicament(**Evans, 2004**). Alors que leurs recherches commençaient à être couronnées de succès, la Seconde Guerre mondiale a été déclarée. Le projet a été déplacé aux États-Unis pour le préserver des bombardements allemands, et les travaux ont été orientés vers la fabrication en grandes quantités de la moisissure produisant la pénicilline. L'objectif était de pouvoir fournir un médicament pouvant traiter les nombreux blessés dus à la guerre. Le monde entier parlait alors de la pénicilline et de ses effets miraculeux. Dans l'inconscient collectif, les antibiotiques ont commencé à devenir le remède aux maladies infectieuses. La fin de la Seconde Guerre mondiale a vécu l'apparition d'un autre antibiotique célèbre, la streptomycine. Produite par un micro-organisme vivant dans le sol, *Streptomyces griseus*, cette substance a été découverte par Waksman en 1943. Elle s'est révélée efficace contre les bactéries de certaines infections courantes, de la méningite et, surtout, de la tuberculose. La streptomycine a été le premier véritable médicament capable de lutter efficacement contre cette maladie chronique

(Benteley et Bennetl ,2003).

### II.3. Critères de classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon quatre critères :

- **L'origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique) ;
- **Le mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques ;
- **Le spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) ;
- **La nature chimique** : très variables, elle est basée souvent sur une structure de base(Benabbou, 2012).

### II.4. Mode d'action des antibiotiques

On considère les antibiotiques comme le groupe le plus important de médicaments pour la médecine. À coté de leurs propriétés de lutter contre les infections humaines dues aux bactéries pathogènes, ils sont également utilisés en médecine vétérinaire (Emmanuel, 2003).Les antibiotiques agissent à un niveau précis dans les structures bactériennes et chaque famille possède son propre site d'action (figure 3).

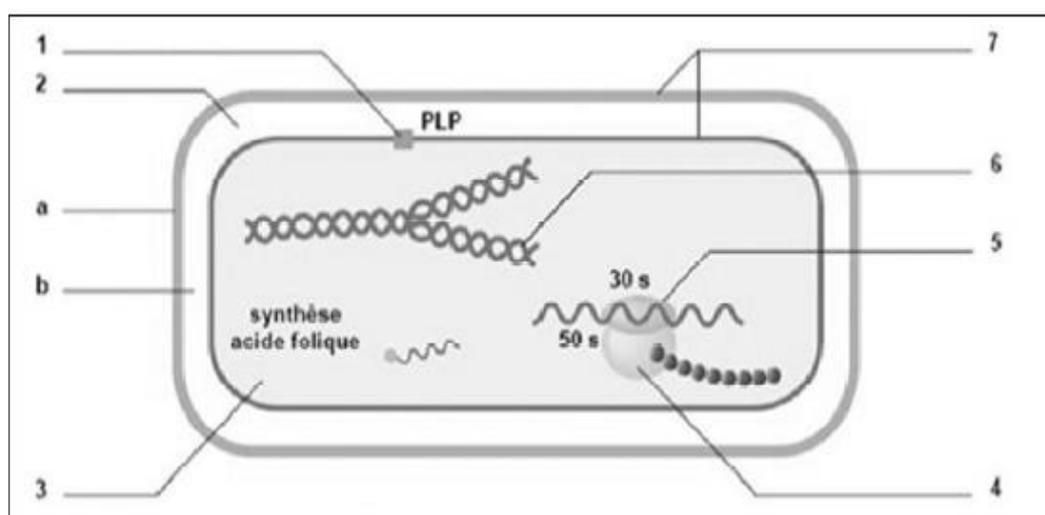
**II.4.1. Action sur la paroi bactérienne** : la bacitracine, la pénicilline et les céphalosporines agissent sur les germes en croissance et inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité, se qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intra cytoplasmique) (Zeba, 2005).Or, la pénicilline est un antibiotique qui empêche la synthèse de peptidoglycane ; par conséquent, la paroi cellulaire est grandement affaiblie, et la cellule finit par se lyser.(Gerard et al., 2003).

**II.4.2. Action sur la structure de la membrane** : en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échange électrolytique avec le milieu extérieur (Flandrois et al., 1997).

**II.4.3. Action sur la synthèse protéique :** sur les ribosomes, ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéine anormale. Les aminoglycosides ou aminosides (streptomycine, gentamycine, amikacine) empêchent la traduction de l'ARNm en se fixant sur la petite sous-unité des ribosomes (**Hermann, 2005**). Les phénicolés (chloramphénicol, thiamphénicol) bloquent la formation de la liaison peptidique sur la grosse sous-unité du ribosome bactérien. Les cyclines (tétracycline, doxycycline) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique en se fixant sur la petite sous-unité (**Flandrois et al., 1997**). Les macrolides et les kétolides (érythromycine, azithromycine) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique (**Nilius et Ma, 2002**).

**II.4.4. Action sur la synthèse de l'ADN :** certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase. L'actinomycine bloque la progression de l'ARN polymérase. Les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques (**Flandrois et al., 1997**). Les quinolones et les fluoroquinolones inhibent l'ADN gyrase (**Chopra, 1998**).

**II.4.5. Autres:** en agissant tant qu'anti métabolites bactériens (c'est-à-dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries), comme le métabolisme de l'acide folique (**Gerard et al., 2003**).



**Figure 3 :** Cibles des principaux antibiotiques (**Benmouden et Hakkou, 2007**).

a .Paroi bactérienne ; b. Espace périplasmique ; 1.  $\beta$ -lactamine (PLP) ; 2. Glycopeptides ; 3. Dihydroptérorate synthétase (sulfamides) ; 4. Fixation à la sous-unité 50 S du ribosome (macrolides, synergistines, lincosamides, phénicolés) ; 5. Fixation à la sous-unité 30 S du ribosome (aminosides, tétracyclines) ; 6.

Acides nucléiques (quinolones, rifamycines, nitroimidazolés) ; 7. Membranes cytoplasmiques (polymyxines).

### II.5. Classification des antibiotiques

Selon la structure chimique, on peut compter sept classes majeures d'antibiotiques bactériens utilisés en milieu clinique : les  $\beta$ -lactamines, les glycopeptides, les aminoglycosides, les tétracyclines, les macrolides, les quinolones et les sulfonamides (Nukaga et al., 2003).

#### II.5.1. Bêta-lactamines

##### II.5.1.1. Définition

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

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

##### I.5.1.2. Mode d'action des $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines, analogues structuraux de la terminaison peptidyl-D-alanyl-D-alanine du peptidoglycane, ont pour fonction d'interagir avec un groupe de protéines, les PLPs, également appelées protéines de fixation de la pénicilline (PBP, pour Penicillin Binding Protein), des enzymes responsables de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane (Ghuysen, 1991 ; Nanninga, 1991). L'inhibition de ces transpeptidases, impliquées dans l'étape finale de la biosynthèse de la paroi cellulaire, se fait quand le cycle  $\beta$ -lactame se lie de manière covalente et irréversible au site actif de l'enzyme provoquant son inactivation. Il entraîne une interruption de la synthèse du peptidoglycane et une production subséquente d'enzymes autolytiques entraînant la mort cellulaire (Stratton, 2000).

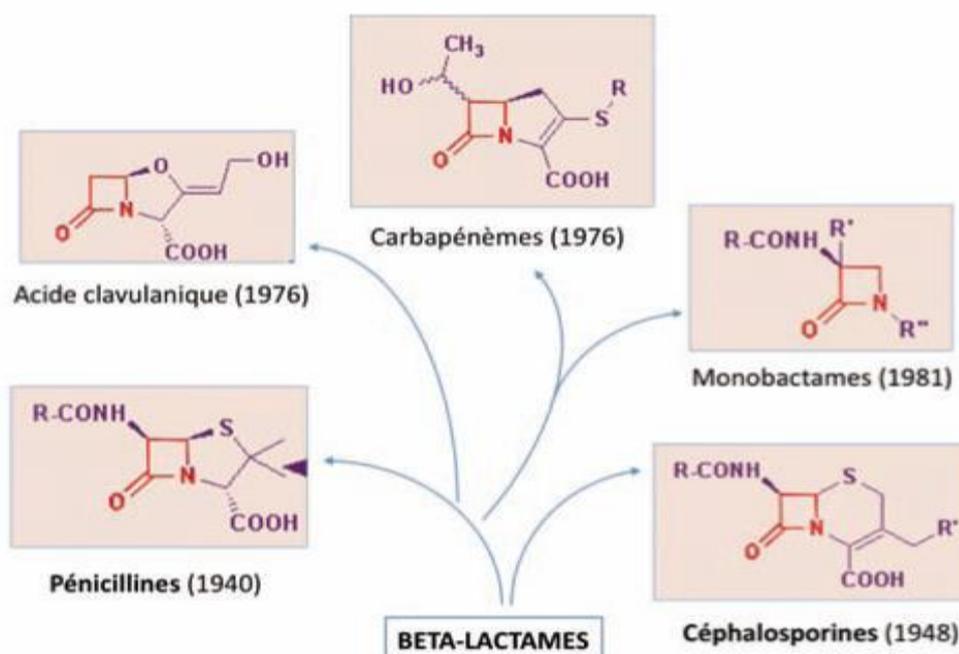
Le peptidoglycane est le constituant majeur de la paroi cellulaire présent chez toutes les bactéries. Il forme un réseau tridimensionnel autour de la cellule et la protège de sa propre pression osmotique, et est essentiel à la croissance et à la division cellulaire (Matagne et al., 1998). Il s'agit d'un polymère formé de chaînes linéaires composées de

répétitions alternatives d'un disaccharide contenant le N-acétylglucosamine (NAG) et l'acide N-acétylmuramique (NAM). Le dernier sucre de ce disaccharide se termine toujours par deux résidus D-alanine. L'assemblage final des ces unités, la transpeptidation, est un processus catalysé par les PBP se terminant par le clivage du résidu D-alanine terminal (Wilke *et al.*, 2005).

### II.5.1.3. Structure

Les  $\beta$ -lactamines ont en commun une structure appelée l'anneau  $\beta$ -lactame, qui est formée de quatre membres : trois atomes de carbone et un atome d'azote. Cet anneau constitue la portion responsable de l'activité de ces molécules (Fisher *et al.*, 2005).

Il existe de nombreuses variétés de bêta-lactamines ayant toutes en commun le noyau bêta-lactame (qui est la partie efficace de la molécule) (Vasseur, 2014). Cette famille comprend cinq principaux groupes : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames, les carbapénèmes et les inhibiteurs de bêta-lactamases (figure 4).



**Figure 4:** Structure chimique des principales bêta-lactamines (Comte *et al.*, 2012).

#### II.5.1.3.1. Les pénicillines

Le noyau fonctionnel de ce groupe est appelé noyau pénème. Les principales molécules sont la pénicilline G, la méticilline et les isoxazolympénicillines (oxacilline et cloxacilline),

les amino-benzylpénicillines (ampicilline et amoxicilline), les uréido-pénicillines (pipéracilline), les carboxy-pénicillines (ticarcilline) et les amidino-pénicillines (mécillinam).

### II.5.1.3.2. Les céphalosporines

Le noyau fonctionnel de ce groupe est appelé noyau céphème. La mise en évidence de cette sous-famille a été initiée en 1945 par le professeur Brotzu en Sardaigne (Gootz, 1990). Il a mis en évidence l'activité antibactérienne du filtrat d'un champignon dénommé *Cephalosporium acremonium*, isolé à partir d'eau de mer prélevée à proximité d'une décharge publique. Ces  $\beta$ -lactamines sont toutes à large spectre et leur intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif (Gootz, 1990 ; Limbert et al., 1991).

Il existe quatre générations de céphalosporines classées selon leur date de mise sur le marché et leur spectre d'activité :

- ✓ **Première génération (C1G):** Comme la céfalotine et la céfaloridine qui sont essentiellement efficaces contre les bactéries pathogènes à Gram positif comme *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pneumoniae* et à quelques entérobactéries ne produisant pas de céphalosporinases inductibles comme *E. coli* et *Salmonella* spp. Ce sont les moins stables vis-à-vis de l'hydrolyse par les bêta-lactamases (Limbert et al., 1991) ;
- ✓ **Deuxième génération (C2G):** Comme le céfamandole et la céfoxitine qui sont caractérisées par une meilleure résistance aux  $\beta$ -lactamases à large spectre et un spectre d'action plus étendu au sein des entérobactéries, avec des variations selon les molécules (Limbert et al., 1991) ;
- ✓ **Troisième génération (C3G):** Telles que la céfotaxime et la ceftazidime qui se distinguent par un accroissement important de leur spectre antibactérien et par leur stabilité à la plupart des  $\beta$ -lactamases comme les pénicillinases et les céphalosporinases chromosomiques des entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (Cavallo et al., 2004).
- ✓ **Quatrième génération (C4G):** Telles que le céfépime et le ceftpirome qui sont des antibiotiques à large spectre et présentent un gain d'activité sur les cocci à Gram

positif, une activité sur *P. aeruginosa* et une meilleure résistance à l'hydrolyse par les céphalosporinases hyperproduites. Elles sont une substitution possible aux céphalosporines de troisième génération pour le traitement de germes résistants. (Hardman et Limbird, 1998)

#### II.5.1.3.3. Les carbapénèmes

Le noyau fonctionnel de ce groupe est appelé noyau pénème. Ce sont les plus efficaces actuellement comme l'imipénème et la méropénème. Ils sont très actifs sur un grand nombre d'espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif. (Cavallo et al., 2004)

L'imipénème est résistant à la plus part des  $\beta$ -lactamases, y compris les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi. De très rares souches d'entérobactéries sont apparues capables de dégrader l'imipénème ont été décrites (Cavallo et al., 2004).

#### II.5.1.3.4. Les monobactames

Le noyau fonctionnel de ce groupe est appelé noyau azétidine. La molécule la plus connue de ce groupe est l'aztréonam, qui a une activité sur les bacilles à Gram négatif comparable à celle des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, mais elle est inactive sur les bactéries à Gram positif et les anaérobies (Le Noc, 1999).

#### II.5.1.3.5. Les inhibiteurs des $\beta$ -lactamases

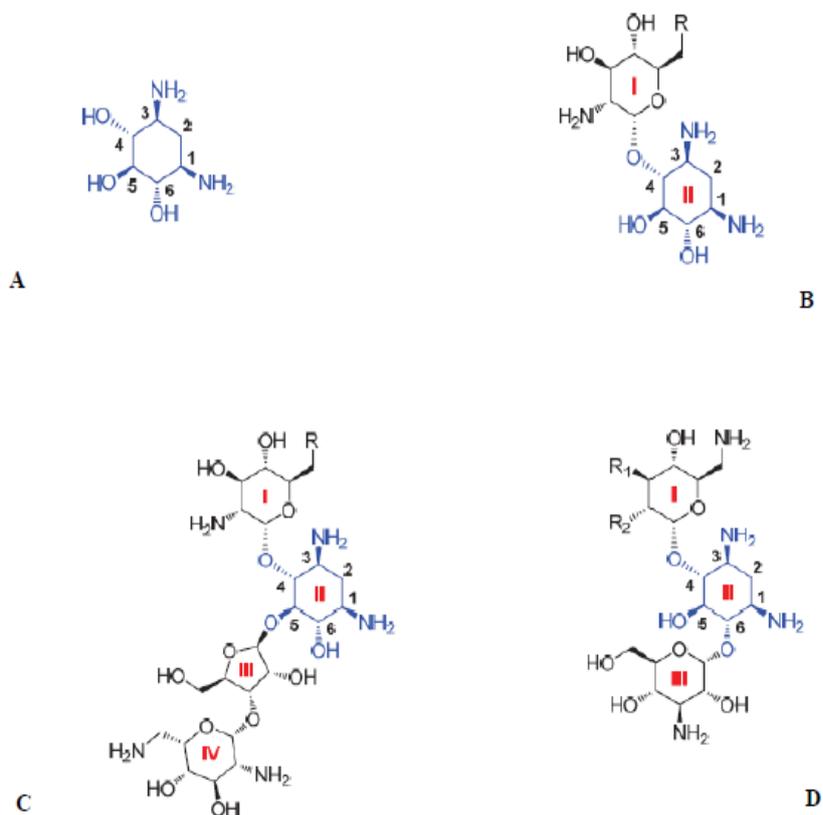
Ils possèdent une faible activité antibactérienne intrinsèque. En se liant à la bêta-lactamase, ils permettent l'activité de la bêta-lactamine à laquelle ils sont associés. Il en résulte une action synergique et une augmentation de l'activité de la bêta-lactamine. , ils sont utilisés en association avec d'autres  $\beta$ - lactamines (amoxicilline, ticarcilline et pipéracilline). L'association amoxicilline-acide clavulanique (Augmentin) semble être la plus utilisée (Andre et al., 1998).

### II.5.2. Aminosides

#### II.5.2.1. Définition

Les antibiotiques aminosidiques ou aminoglycosides sont des molécules de petite taille, présentant une action bactéricide. Ils sont constitués de plusieurs cycles substitués par des fonctions amines et hydrolyse et dont certains sont des cycles sucrés (figure 5) (Poole,

2005). Ces composés sont largement employés en thérapeutique dans le traitement des infections bactériennes sévères, principalement en milieu hospitalier (**Courvalin et al., 1991**).



**Figure5:** Structure de quelques aminosides: le cycle central DOS est indiqué en bleu(**Poole, 2005**)

**A :** Desoxystreptamine (DOS) ; **B :** Paromamine (R = OH) ; Neamine (R = NH<sub>2</sub>) ;

**C :** Paromomycine (R = OH) ; Neomycine (R = NH<sub>2</sub>) ;

**D :** Kanamycine (R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = OH) ; Tobramycine (R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = NH<sub>2</sub>)

### II.5.2.2. Classification des aminosides

Les aminosides sont classés selon la position des sucres fixés sur le cycle désoxystreptamine. Plusieurs substitutions sont distinguées : (**Le Minor et Véron, 1989**).

- Substitution en 4-5: néomycine, paromomycine, lividomycine, ribostamycine et

butyrosine ;

- Substitution en 4-6: ici situent tous les aminosides essentiels, parmi lesquels on peut rapprocher, en fonction des analogies de formules, kanamycine, tobramycine, dibékacine et amikacine, gentamicine, sisomicine et nétilmicine ; (**Le Minor et Véron, 1989**).
- Autres aminosides : spectinomycine, apramycine, fortimicine, kasugamycine ces trois derniers ne sont pas utilisés en thérapeutique humaine (**Le Minor et Véron, 1989**).

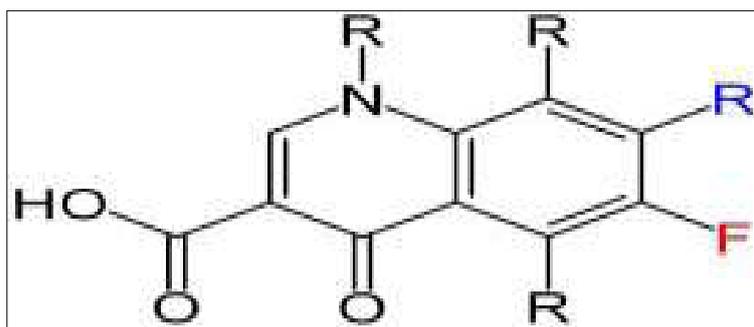
### **II.5.2.3. Mode d'action des aminosides**

Les aminosides ont pour principale cible le ribosome. Ils doivent tout d'abord pénétrer dans le cytoplasme bactérien (**Magnet et Blanchard, 2005**). Chez les bactéries à Gram négatif, les aminosides diffusent à travers la membrane externe par un système de porines. Une fois dans l'espace périplasmique, le franchissement de la membrane cytoplasmique nécessite un transport actif, oxygène dépendant. Cette étape limitante, explique la résistance naturelle aux aminosides des germes anaérobies stricts (**Bryan et Kwan, 1983**). Les quelques molécules ayant atteint le cytoplasme se fixent au site aminoacyl de l'ARN ribosomal 16S (Le site A), dans la sous-unité 30S du ribosome (**Durante-Mangoni et al., 2009**). Cette liaison inhibe l'appariement de l'ARNm au ribosome et empêche l'initiation de la traduction et peut aussi causer une mauvaise interprétation du code génétique, conduisant à la synthèse de protéines "nonsens" (**Kotra et al., 2000**). Les protéines aberrantes nouvellement synthétisées sont incorporées à la membrane cytoplasmique. Elles endommagent son intégrité et facilitent ainsi l'entrée dans le cytoplasme de nouvelles molécules aminosides, qui vont accroître les dommages cellulaires et entraîner la mort de la cellule (**Taber et al., 1987**). Les aminosides peuvent en outre, s'accumuler de façon irréversible dans la cellule bactérienne, altérer la synthèse de l'ADN ou dégrader l'ARN ou encore provoquer des désordres ioniques importants dans la cellule bactérienne (**Lambert, 1997**). Cette pléiotropie suggère que l'action des aminosides pourrait ne pas être limitée à la synthèse protéique, ce qui explique leur effet bactéricide rapide (**Forge et Schacht, 2000**).

### **II.5.3. Quinolones**

#### **II.5.3.1. Définition**

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité (**Cattoir, 2012**). Parmi eux, les fluoroquinolones qui sont actifs notamment sur les bacilles à Gram négatif (entérobactéries, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*). Elles sont largement prescrites dans les infections urinaires, respiratoires, génitales, osseuses, méningites, abdominales... etc., en particulier au cours d'infections à bacilles à Gram négatif aérobies (**Ansart et al., 2005**). Leur structure de base est présentée dans la figure ci-après :



**Figure 6 :**Structure de base des quinolones (**Faure, 2008**).

### II.5.3.2. Classification des quinolones

- Les premières quinolones, dites de première génération: acide nalidixique, acide oxolinique, acide pipémidique, comprennent des molécules à spectre étroit, utilisées dans le traitement des infections urinaires dues aux entérobactéries ;
- Les quinolones de deuxième génération: norfloxacine, ofloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine, présentent un spectre élargi à d'autres bacilles à Gram négatif ;
- Les molécules de troisième génération ou dites fluoroquinolones: sparfloxacine, lévofloxacine, moxifloxacine ;
- Les fluoroquinolones de quatrième génération: trovafloxacine, gatifloxacine présentant une activité accrue sur les bactéries anaérobies strictes (**Cattoir, 2012**).

### II.5.3.3. Mode d'action des quinolones

Le mécanisme d'action de cette classe pharmacologique consiste en une inhibition de

l'ADN gyrase, topoisomérase II bactérienne composée de deux sous-unités A et deux sous-unités B et de la topoisomérase IV. Ces enzymes sont essentielles à la réplication et à la transcription de l'ADN bactérien. L'inhibition par les quinolones du complexe ADN bactérien-enzymes empêche le «surenroulement» de l'ADN, le relâchement de l'ADN «surenroulé» et entraîne la séparation de la double chaîne hélicoïdale de l'ADN. Les quinolones sont spécifiques à l'ADN bactérien et exercent une activité bactéricide pendant la phase de multiplication et de repos des bactéries (Larouche, 2001).

## II.5.4.Rifampicine

### II.5.4.1.Classification

La classe des rifamycines a été découverte en Italie en 1957. Le chef de file de la famille, la rifamycine B, est une molécule naturelle isolée de *Nocardia mediterranei*. La rifamycine B a été transformée à partir de la solution aqueuse en une molécule plus active, la rifamycine S, elle-même transformée en rifamycine SV. Cette dernière est un antibiotique très actif et plus soluble, mais non absorbable par voie orale. En 1965, il a été synthétisé un dérivé le 3-4-méthyl-piperaziny limino méthyle administrable par voie orale, appelé rifampicine, qui est devenu le principal composant de la famille (figure7)(Taha et al., 2006).

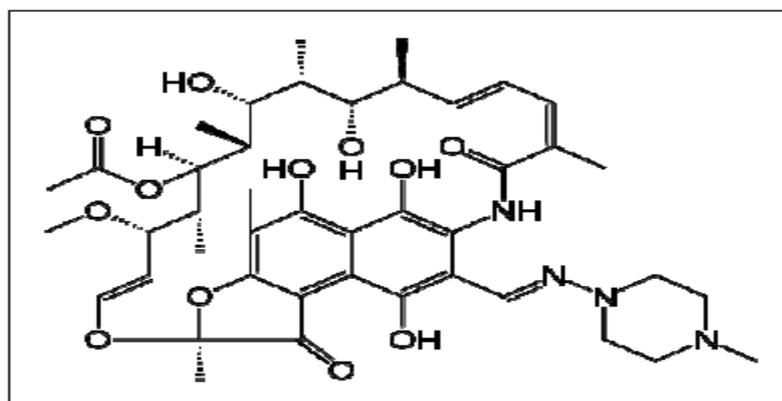


Figure 7 : Structure de la rifampicine(Taha et al., 2006)

### II.5.4.2. Mode d'action de la rifampicine

L'action bactéricide de la rifampicine se situe au niveau du génome bactérien et se traduit par un blocage transcriptionnel. En effet, la rifampicine se lie de façon covalente à la sous-

unité  $\beta$  de l'ARN polymérase codée par le gène *rpoB*. Cette liaison inhibe l'initiation de la transcription de l'ADN bactérien et la formation de l'ensemble des ARN messagers, des ARN de transfert et des ARN ribosomiaux (Xu et al., 2005).

## II.5.5. Tétracyclines

### II.5.5.1. Définition

Ce sont des antibiotiques de type bactériostatique de la classe des cyclines, produits par une bactérie du genre *Streptomyces*. Elles sont indiquées contre nombre d'infections bactériennes à Gram positif, Gram négatif et anaérobies, mais aussi contre d'autres micro organismes de type parasites (Boukaa, 2013).

### II.5.5.2. Mode d'action des tétracyclines

Les tétracyclines traversent la paroi bactérienne soit en empruntant la voie des porines (pour les molécules hydrophiles) ou par diffusion à travers la couche de phospholipides (pour les molécules lipophiles). Le passage de la membrane cytoplasmique nécessite un transport actif. Les tétracyclines sont des inhibiteurs de la traduction. Elles se fixent sur la sous-unité 30S des ribosomes, s'opposant à la fixation de l'acide aminé-ARNt sur le site constitué par le complexe ARNm-ribosome, ce qui stoppe la phase d'élongation de la synthèse protéique (Boukaa, 2013).

## II.6. Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux pénicillines G et M, macrolides, lincosamides, synergistines et glycopeptides. Elles sont habituellement sensibles aux  $\beta$ -lactamines, phénicoles, tétracyclines, sulfamides, triméthoprime, nitrofuranes, fosfomycine, colistine et aminoside (kanamycine, gentamicine, tobramycine, amikacine, netilmicine et nétilmicine) (Bonnet, 2006).

# Chapitre III

## Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

## Chapitre III

### Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

#### III.1. Définition de la résistance aux antibiotiques

De nombreuses molécules d'antibiotiques d'origine naturelle ou synthétique ont été découvertes de la fin des années 1940 jusqu'aux années 1970. Le succès des premiers traitements anti infectieux a fait considérer un peu hâtivement le problème des maladies infectieuses comme définitivement réglé. Cependant, l'enthousiasme a décliné avec l'apparition des premières résistances des bactéries aux antibiotiques. Les bactéries ont su s'adapter et résister plus ou moins vite à chaque nouvel antibiotique introduit en thérapeutique (**Ploy et al., 2005**). Ces résistances peuvent avoir un spectre étroit, limité à un ou quelques antibiotiques de structure voisine, mais on observe depuis plusieurs années l'émergence de mécanismes de résistances croisées à des molécules de structures et de modes d'actions différents (**Walsh, 2000**). Aujourd'hui, de véritables « monstres » bactériens résistants à tous les antibiotiques sont devenus de plus en plus émergents (**Ploy et al., 2000**).

#### III.2. Origine génétique de la résistance et modalités de transfert génétique

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de la résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans des éléments mobiles, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (résistance extra chromosomique). La résistance peut être soit naturelle, soit acquise (**Mandell et al., 2009**).

##### III.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les cellules de toutes les souches alors que la résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée (**Fauchère et Avril, 2002**).

La résistance naturelle est stable et transmise à la descendance mais pas ou peu

transmissible sur un mode horizontal. Inversement, la résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance naturelle a pour support génétique le chromosome bactérien et elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques (**Fauchère et Avril, 2002**). Ses mécanismes biochimiques sont nombreux dont quelques-uns d'entre eux sont cités ci-dessous :

- Les bacilles à Gram négatif (et notamment les entérobactéries dont *K.pneumoniae* et *P. aeruginosa*) sont naturellement résistants, le plus souvent à bas niveau, aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (pénicilline G, pénicilline M, macrolides, rifampicine, acide fusidique, novobiocine, vancomycine) puisque ces antibiotiques ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi. *K. pneumoniae* est naturellement résistante à l'amoxicilline, ampicilline et à la ticarcilline grâce à une  $\beta$ -lactamase chromosomique naturelle (**Pina et al., 2000**) ;
- Les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides car le passage de ces derniers à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies. Pour les mêmes raisons, les bactéries aéro-anaérobies facultatives sont moins sensibles aux aminosides lorsqu'elles sont placées dans un environnement pauvre en oxygène (**Paul, 2005**) ;
- Certaines espèces (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis*, *Bacillus cereus*, *Nocardia* spp., ...) produisent naturellement des  $\beta$ -lactamases (**Paul, 2005**).

### III.2.2. Résistance acquise

Elle existe grâce à l'acquisition d'un ou de plusieurs mécanismes de résistance qui déterminent un phénotype bien précis de résistance, différent du phénotype sauvage, caractérisant les souches n'ayant pas acquis ce mécanisme. Elle ne concerne qu'une population plus ou moins importante de souches d'une espèce (**Meyer et al., 2004**).

Dès le début de l'antibiothérapie, la résistance acquise a été observée mais sa fréquence était faible. Ultérieurement, la généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes et on constate, quotidiennement, que de

très nombreuses souches ne se comportent pas à l'égard des antibiotiques conformément à ce que les spectres d'activité permettraient de le supposer. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis à-vis des antibiotiques (**Ros, 1999; Meyer et al., 2004**).

### **III.2.2.1. Mutation chromosomique (évolution verticale)**

La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20% des bactéries. Elle produit environ une fois pour chaque milliard de divisions cellulaires (**Pallasch, 2003**).

### **III.2.2.2. Acquisition de gènes de résistance (évolution horizontale)**

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique qui s'observe aussi bien chez les bactéries à Gram positif qu'à celles à Gram négatif. L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'élément mobile. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien qui est situé à l'extérieur et sur certains éléments mobiles du chromosome, tels les transposons. Cette forme de résistance est transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes. Le risque d'une résistance à plusieurs antibiotiques augmente aussi avec le transfert d'un seul plasmide. Par exemple, *Enterococcus faecalis* peut transférer un plasmide responsable de résistance à quatre ou cinq antibiotiques différents (**Carattoli, 2001**).

Les gènes ou les groupes de gènes de résistance peuvent s'acquérir par transformation, transduction ou conjugaison (**Carattoli, 2001**).

- **Transformation**

Il s'agit d'un mécanisme d'acquisition d'ADN libre par certaines espèces bactériennes capables au cours de leur cycle cellulaire de présenter un état physiologique (état de compétence) nécessaire à la fixation et l'absorption d'ADN par ces bactéries. La transformation nécessite la présence dans le milieu environnant d'ADN libre provenant d'une cellule lysée, cet ADN libre est ensuite fixé et absorbé par une bactérie réceptrice

en phase de compétence. Dans cette bactérie, l'ADN exogène subit une recombinaison génétique afin de s'intégrer de façon stable au génome et d'être transmis aux cellules filles (**Schwarz et Chaslus-Dancla, 2001**). La transformation joue un rôle limité dans le transfert de gènes de résistance car l'ADN libre doit d'une part présenter une importante similarité avec l'ADN de la cellule réceptrice et d'autre part l'ADN libre dans l'environnement est rapidement dégradé. De plus, les espèces bactériennes naturellement compétentes sont peu nombreuses (**Schwarz et Chaslus-Dancla, 2001**).

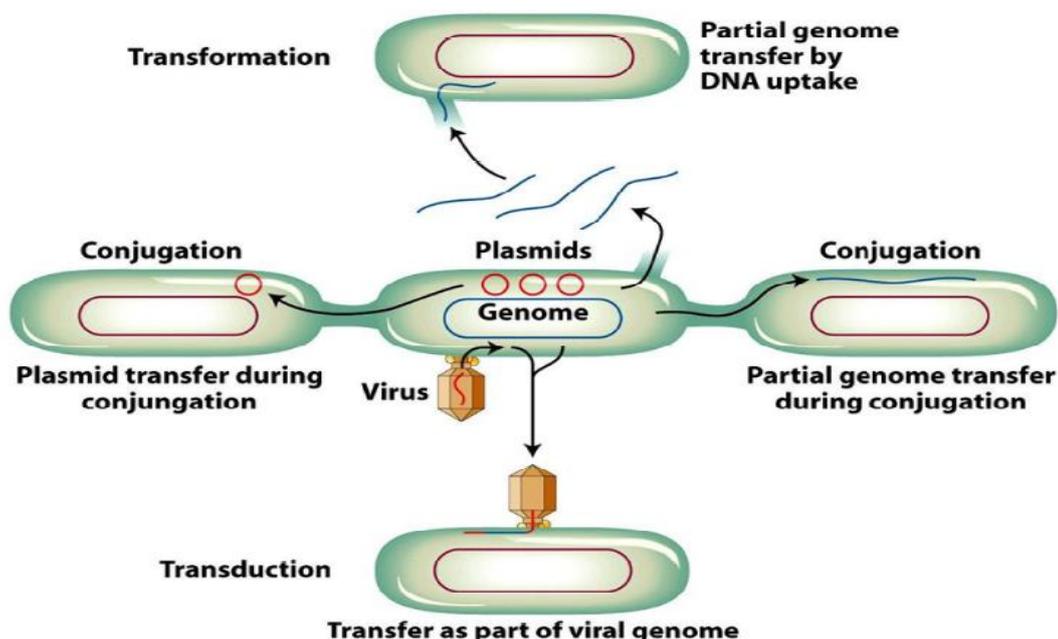
- **Transduction**

La transduction est un processus qui consiste en un transfert de matériel génétique (ADN bactérien) d'une bactérie donneuse à une bactérie réceptrice par l'intermédiaire d'un bactériophage. Le bactériophage infecte une première bactérie (bactérie donneuse) et y injecte son ADN viral à travers la paroi de la cellule. De nouveaux phages s'y développent, et certains intègrent une partie du génome bactérien dans leur capsid de phage (la taille du fragment d'ADN bactérien doit être proche de celle de l'ADN phagique). Lors de la libération des phages, ceux-ci vont infecter d'autres bactéries. Les phages comportant une partie d'ADN bactérien vont l'injecter dans une nouvelle bactérie (bactérie réceptrice (**Davison, 1999**)).

- **Conjugaison**

La conjugaison est une technique utilisée par les bactéries pour échanger des informations génétiques. Elle consiste en une transmission d'éléments génétiques d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice. La conjugaison nécessite un contact étroit entre la bactérie donatrice et la bactérie réceptrice par l'intermédiaire d'un pont cytoplasmique permettant un transfert unidirectionnel. La bactérie réceptrice ayant reçu le plasmide est appelée transconjugant. La sélection des transconjugants s'effectue en présence de deux antibiotiques: un correspond à l'une des résistances transférées de la souche donatrice et l'autre à la résistance non transférable de la souche réceptrice. De nombreux éléments génétiques, comme les plasmides et les transposons qui représentent les différents supports mobiles des gènes de résistance aux antibiotiques sont transférables par conjugaison (**Davison, 1999**).

Les trois mécanismes de transfert génétique sont illustrés dans la figure 8 :



**Figure 8 :** Trois mécanismes de transfert génétique (Badri N et Necib T, 2006)

### III.2.3. Résistance croisée et co-résistance

La résistance croisée résulte d'un seul mécanisme biochimique et concerne des antibiotiques appartenant à la même famille. La co-résistance est liée à plusieurs mécanismes (plusieurs gènes de résistance impliqués) et concerne des antibiotiques appartenant à différentes familles. (Badri N et Necib T, 2006)

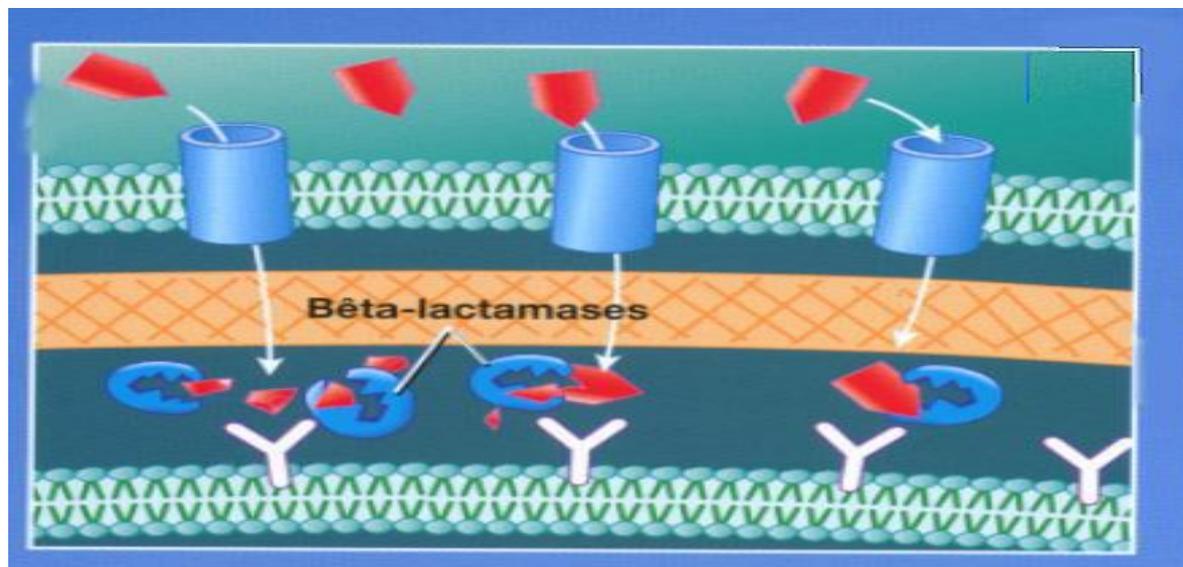
### III.3. Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

L'utilisation souvent abusive des antibiotiques favorise l'évolution des bactéries vers la résistance entraînant fréquemment des échecs thérapeutiques. Plusieurs mécanismes sont décrits :

#### III.3.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Il existe de nombreuses enzymes bactériennes qui détruisent l'antibiotique par divers réactions : des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. En modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, l'enzyme empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une

perte d'activité (figure 9)(Muylaert et Mainil,2012).Ce type de résistance est représenté principalement par les bêta-lactamases codées par des plasmides ou des éléments génétiques transposables.(Muylaert et Mainil,2012)



**Figure 9:** Inactivation enzymatique de l'antibiotique(Archambaud, 2009)

### III.3.2.Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

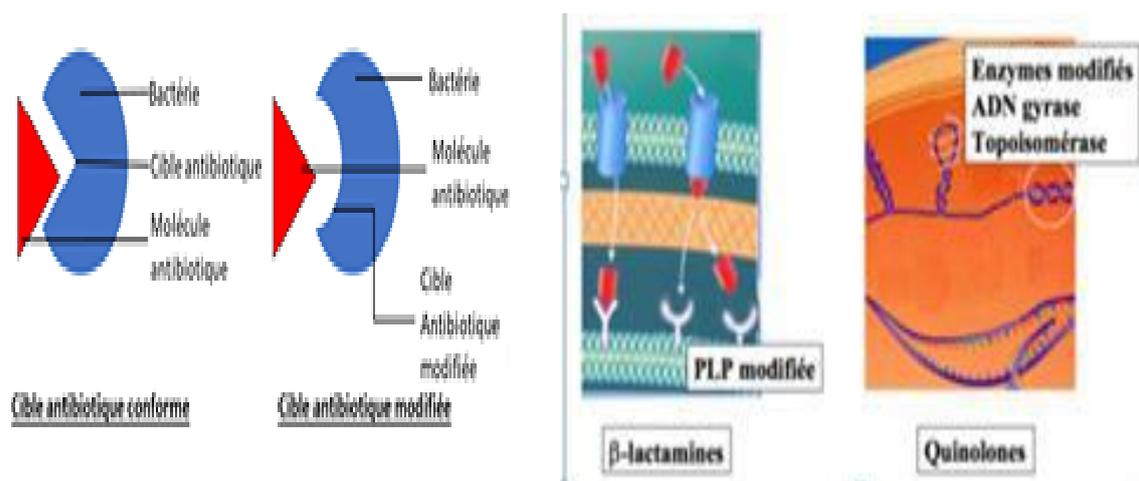
La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie.

La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries à Gram positif, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries à Gram positif et négatif. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamides, les diaminopyrimidines (triméthoprimine) et les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) ainsi qu'à toutes les bêta-lactames d'usage vétérinaire sont un exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (Penicillin Binding Protein) possédant une affinité moindre pour la méthicilline (Muylaert et Mainil,2012). Trois mécanismes peuvent intervenir(Lozniewski et Rabaud, 2010) :

a/ Diminution de l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines ;(ex. : *Streptococcus pneumoniae* ; les bêta-lactamines ont du mal à se fixer aux PLP qui restent disponibles pour la synthèse du peptidoglycane) ; **(Lozniewski et Rabaud, 2010)**

b/ Augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyperexpression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les bêta-lactamines (ex. : *Enterococcus* spp ; cas précédant avec en plus une augmentation du nombre de PLP disponibles pour la synthèse du peptidoglycane ce qui conduit à une impossibilité pour une même dose de bêta-lactamines de toutes les bloquer) ; **(Lozniewski et Rabaud, 2010)**

c/ Synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines;(ex. : *Staphylococcus aureus* : l'acquisition et l'intégration dans le chromosome d'un gène (*mecA*), d'origine mal connue, induit la synthèse d'une nouvelle PLP, la PLP 2a qui est capable d'assurer à elle seule l'assemblage du peptidoglycane et elle confère une résistance à toutes les bêta-lactamines **(Lozniewski et Rabaud, 2010).**



### III.3.3.Pompes à efflux (l'efflux actif)

Ce mécanisme est médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs. Il nécessite de l'énergie et est utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien

dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible(Poole, 2001).

On classe ces pompes à efflux sur la base de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour specific-drug-résistance), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (pour multiple-drug-résistance). (Poole, 2001).

Les pompes SDR, généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles, représentent un important mécanisme de résistance aux tétracyclines essentiellement parmi les bactéries gram négatives, aux composés du groupe MLS et aux phénicolés(Poole, 2001).

Les pompes MDR notamment chez *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes* et *Streptococcus agalactiae* sont généralement responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques, sont classées en deux groupes sur base de la source d'énergie utilisée : les transporteurs ABC (pour ATP-binding cassette) utilisant l'hydrolyse de l'ATP et plutôt spécifiques de certains composés comme le groupe MLS, et les transporteurs secondaires exploitant le gradient électrochimique transmembranaire de protons et d'ions sodium pour expulser la molécule à l'extérieur de la cellule et responsables de résistances multiples aux antibiotiques(Poole, 2001).



Figure 11 :Illustration des pompes à efflux(Archambaud, 2009)

### III.3.4.Perméabilité réduite

Au sein des bactéries à Gram négatif, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines, alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique. La membrane externe de certaines bactéries telles que *P. aeruginosa* est moins perméable que celle d'autres espèces, ce qui lui confère un niveau moins élevé de sensibilité aux antimicrobiens.(Zaini S et Moumen S, 2019)

En outre, des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Citons comme exemple, la réduction de l'expression de la porine OmpF chez *E. coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêta-lactamines, aux tétracyclines et au chloramphénicol. La diminution de la perméabilité est donc un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries à Gram négatif et plus précisément chez *P. aeruginosa* et les entérobactéries, étant donné le large spectre d'antibiotiques qu'elle cible.(Zaini S et Moumen S, 2019)

En outre, on décrit également ce type de phénomène pour expliquer la résistance aux aminoglycosides parmi les germes anaérobies ainsi que le faible niveau de sensibilité clinique (résistance intrinsèque à bas niveau) observé vis-à-vis de cette famille de composés parmi les bactéries anaérobies facultatives telles que les entérocoques et les streptocoques. En effet, cette famille d'antibiotiques pénètre à l'intérieur des cellules bactériennes via un mécanisme de transport dépendant d'un métabolisme aérobie.(Zaini S et Moumen S, 2019)

### III.3.5.Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome.(Zaini S et Moumen S, 2019)

Depuis quelques années, des souches présentant des résistances à bas niveau aux fluoroquinolones ont été observées. Ces résistances sont notamment dues à la présence de gènes plasmidiques *qnr* (pour quinolone résistance) dont 5 groupes existent. Ce mécanisme a été rapporté parmi différentes bactéries à Gram négatif dans plusieurs régions du monde, et des analogues de ces gènes ont également été décrits chez des bactéries à Gram positif (**Lesseur,2014**). Les protéines *qnr* en se fixant sur les topoisomérases, cibles des fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles. (**Lesseur,2014**)

### **III.3.6.Piégeage de l'antibiotique**

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi, des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et du triméthoprimé ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes(**Muylaert et Mainil, 2012**).

Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *Staphylococcus aureus*, et à la tobramycine chez *E. coli* (**Muylaert et Mainil, 2012**).

Les principaux mécanismes de résistance son illustrés dans la figure suivante.

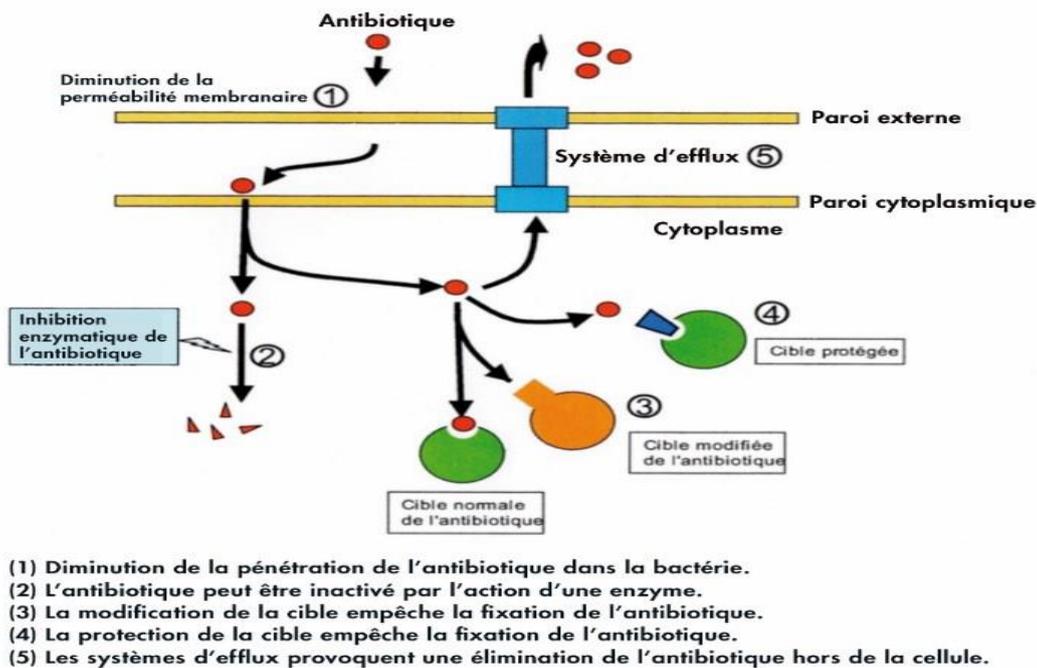


Figure 12 :Principaux mécanismes de la résistance aux antibiotiques(Lesseur,2014).

### III.4. Bêta-lactamases

#### III.4.1. Définition

Les bêta-lactamases sont des enzymes hydrolysant les bêta-lactamines en ouvrant le cycle bêta-lactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique en question (figure 13). Chez les entérobactéries, les bêta-lactamases sont exportés dans l'espace périplasmique (Gangoue, 2007). A l'heure actuelle, plus de 500 bêta-lactamases différentes sont répertoriées (Babic et al., 2006).

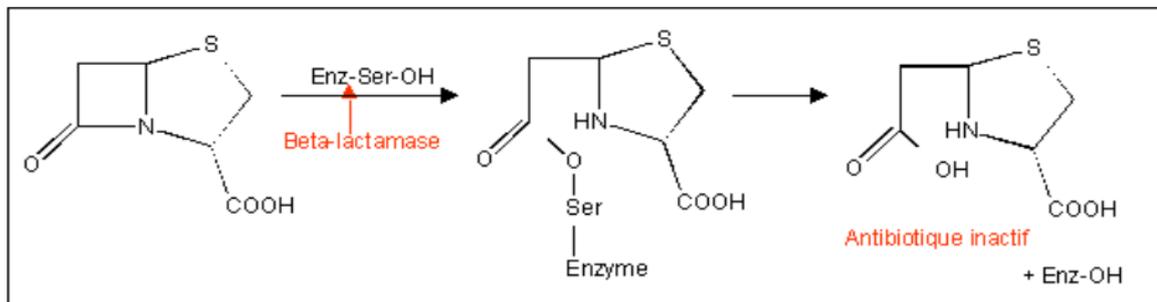


Figure 13 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle bêta-lactame (Barriat et Scotet, 2006)

### III.4.2. Classification

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

- ❖ **La classification d'Ambler** : s'appuie sur l'homologie de séquence des acides aminés. Elle divise les bêta-lactamases en quatre groupes (de A à D) ;
- ❖ **La classification de Bush** : fondée sur les caractéristiques en relation avec l'activité des enzymes (substrat, profil d'inhibition). Elle divise également ces enzymes en quatre groupes.

Ces enzymes peuvent aussi être classées selon leurs vitesses d'hydrolyse, leurs constantes d'affinité pour les bêta-lactamines, leur faculté à être inhibées par les inhibiteurs tels que l'acide clavulanique. Sur un plan pratique, les bêta-lactamases peuvent être regroupées en 4 catégories (Lozniewski et Rabaud, 2010):

- ❖ **Les pénicillinases sensu stricto** : chez *Staphylococcus aureus*, elles inactivent la pénicilline G et les pénicillines A. Elles sont par contre sans action sur la pénicilline M (oxacilline ou méticilline) ainsi que sur les céphalosporines (Lozniewski A et Rabaud C, 2010) ;
- ❖ **Les bêta-lactamases à spectre élargi** : ces bêta-lactamases, codées par des plasmides, entraînent une résistance (ou une diminution d'activité) vis-à-vis des pénicillines G, des pénicillines M, des carboxypénicillines, des uréidopénicillines, des céphalosporines de 1ère et de 2ème génération (sauf les céphamycines). Les bêta-lactamases à spectre élargi sont bien inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam (Lozniewski A et Rabaud C, 2010) ;
- ❖ **Les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)** ; ces bêta-lactamases dérivent des enzymes précédentes par mutation des gènes codant pour les bêta-lactamases à spectre élargi. Le profil de résistance conféré est identique à celui conféré par les bêta-lactamases à spectre élargi mais, il s'étend aux céphalosporines de 3ème génération et à l'aztréonam. Les bêta-lactamases à spectre étendu restent sensibles aux inhibiteurs (Lozniewski A et Rabaud C, 2010) ;

- ❖ **Les carbapénémases :** Les carbapénèmes sont des  $\beta$ -lactamines à large spectre qui constituent la dernière ligne du traitement efficace des infections à EBLSE (Vardakas KZ et al., 2012). Les enzymes qui possèdent une activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes, les carbapénémases, appartiennent à trois des quatre classes d'Ambler (A, B et D) (Queenan AM et Bush K, 2007). Comme les souches qui produisent ces enzymes sont fréquemment résistantes à d'autres classes d'antibiotiques, elles constituent une menace sanitaire par risque d'impasse thérapeutique. L'émergence des carbapénémases chez les entérobactéries au cours de ces dernières années a conduit les autorités sanitaires de certains pays à mettre en place des programmes visant à maîtriser leur diffusion (Carmeli Y et al., 2010).

Le mécanisme d'inactivation enzymatique est également décrit pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour des aminoglycosides, les phénicolés, les tétracyclines, la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Muylaert et Mainil, 2012).

### III.5. Les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)

#### III.5.1. Définition

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

Au sein des entérobactéries, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont les deux espèces les plus fréquemment porteuses de ces mécanismes de résistance. Toutefois, ces enzymes ont été retrouvées au sein de nombreuses autres espèces bactériennes, entérobactéries et bacilles non fermentants (tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*) (Jacoby et Munoz-Price, 2005). Il s'agit d'un mécanisme de résistance de type plasmidique, et donc transmissible à d'autres bactéries. La présence de ce type de mécanisme de résistance au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur d'inadéquation thérapeutique et donc d'échec thérapeutique (Schwaber et

**Carmeli, 2007**), et est également un facteur de diffusion.

Les BLSE confèrent donc une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines à l'exception des céphamycines (céfoxitine et céfotétan) et des carbapénèmes (imipénème, ertapénème, ... etc.). Cependant, Elles peuvent être inhibées *in vitro* par l'acide clavulanique, le tazobactam ou le sulbactam (**Vodovar et al., 2013**). Par contre, ils sont sensibles aux céphamycines (céfotétan et cefoxitine) ainsi qu'aux carbapénèmes. Une co-résistance avec les aminosides, les tétracyclines et les fluoroquinolones est fréquente. Les bactéries possédant des BLSE sont dites multi résistantes(**Paterson et Bonom, 2005**).

Au sein des entérobactéries, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont les deux espèces les plus fréquemment porteuses de ces mécanismes de résistance. Toutefois, ces enzymes ont été retrouvées au sein de nombreuses autres espèces bactériennes, entérobactéries et bacilles non fermentants (tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*) (**Jacoby et Munoz-Price, 2005**).

### **III.5.2. Différents types de BLSE**

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

#### **III.5.2.1. Les BLSE de type TEM**

La première bêta-lactamase plasmidique de type TEM a été isolée à partir d'une souche d'*E. coli* isolée chez une patient nommée Temoneira, d'où la nomination (**Paterson et Bonomo, 2005**). La majorité de BLSE de ce type dérivent de quatre à sept mutations ponctuelles de l'enzyme originale TEM-1, TEM-2 (figure 14)(**Shaikh et al., 2015**).

La substitution les plus courantes sont le glutamate en lysine en position 104, l'arginine en sérine en position 164, la glycine en sérine en position 238 et le glutamate en lysine en position 140.(**Paterson et Bonomo, 2005**)

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

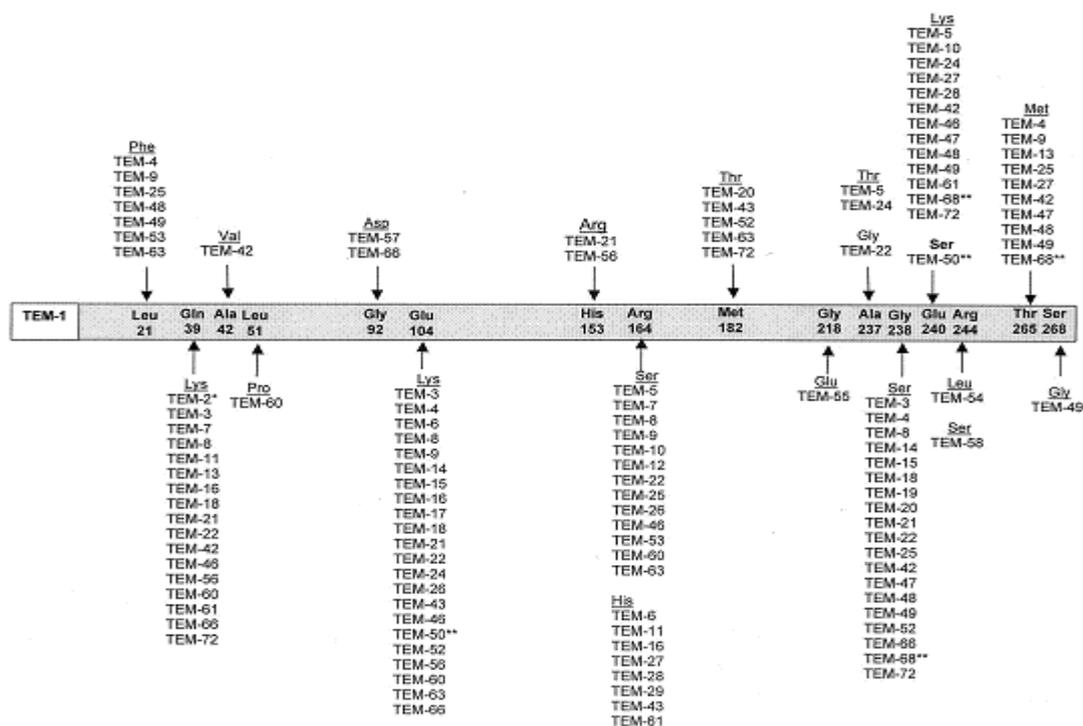


Figure 14 : Les BLSE dérivées de TEM (Ambler et al, 1991).

### III.5.2.2. Les BLSE de type SHV

La majorité des BLSE de type SHV (très fréquentes chez *K. pneumoniae*) est caractérisée par la substitution d'acides aminés de la glycine en sérine ne position 238 qui transforme le phénotype non-BLSE en phénotype BLSE (figure 15). La substitution du glutamate en lysine en position 240 ne fait qu'augmenter l'activité de l'enzyme (Gangoue, 2007 ; Lagha, 2015).

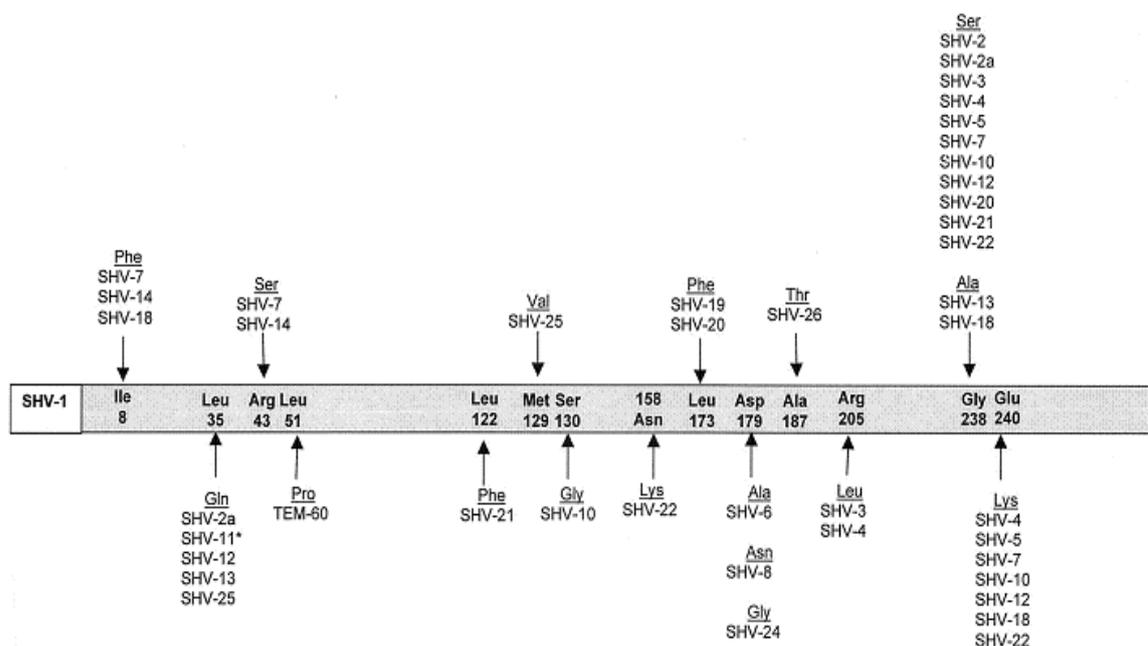


Figure 15 : Les BLSE dérivées de SHV (Bradford, 1999).

### III.5.2.3. Les BLSE de type CTX-M

Les CTX, d'où leur nom, se caractérise par leur activité hydrolytique potentielle sur le céfotaxime (Paterson et Bonomo, 2005). Les BLSE de ce type ont été décrites initialement au milieu des années 1986, et ont depuis lors disséminé largement dans le monde (Naseer et Sundsfjord, 2011).

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

Il existe plus de 150 variants des enzymes de ce type qui ont été récemment décrits, elles diffèrent des autres types par le fait qu'elles sont plus fortement inhibées par le tazobactam que l'acide clavulanique (Livermore et al., 2007).

### III.5.2.4. Autres types de BLSE

D'autres BLSE ont une distribution moins large, caractérisées par un haut niveau de résistance à la ceftazidime et parfois à l'aztréonam plutôt qu'au céfotaxime (Arlet et Philippon, 2003 ; Bradford, 2001), qui sont individualisées en BES-1 (*brazilian extended spectrum*), GES-1 (*Guyana extended spectrum*), PER-1 (*Pseudomonas extended*

*resistance*), SFO-1 (*Serratia fonticola*), TLA-1 (Tlahuicas, tribu mexicaine), et VEB-1 (*Vietnam extended spectrum*). Des enzymes proches de GES-1 ont été découvertes en Grèce, malheureusement dénommées à tort IBC (*integron borne cephalosporinase*) (IBC-1, IBC-2) (Philippon et Arlet, 2006). En fin, l'OXA-1 qui a une grande activité catalytique pour la cloxacilline, l'oxacilline et la méticilline.

### III.5.3. Facteurs de risque

Différents facteurs de risque ont été fréquemment associés avec l'apparition d'une souche productrice de BLSE. Le premier facteur concerne l'utilisation accrue des antibiotiques de type céphalosporines de 3ème génération quelques années avant l'apparition des premières BLSE, et par conséquent, la mise en évidence d'un lien de causalité entre cette utilisation et l'émergence des BLSE (Sirot, 1989).

En d'autres termes, les antibiotiques exercent une pression de sélection non-négligeable (Jacobson et al., 1995), et cette pression de sélection est d'autant plus marquée que le nombre de patients traités est important et que la durée de l'antibiothérapie est longue (Asensio et al., 2000). De plus, on peut constater que la restriction de l'utilisation des antibiotiques a permis la diminution du nombre de BLSE (Follath et al., 1987 ; Chow et al., 1991).

Le deuxième facteur de risque concerne la dissémination des souches résistantes et englobe d'une part le problème des « réservoirs » et d'autre part le problème de la transmission des germes. De plus, différents facteurs en relation avec l'acquisition de bactéries productrices de BLSE concerne des patients gravement malades, suite à une hospitalisation prolongée et après exposition à des dispositifs invasifs (cathéters veineux, sonde urinaire ou tube endotrachéal). Un séjour de longue durée implique une plus longue exposition au risque d'acquérir une bactérie multi-résistante comme *E. coli* et *Klebsiella* (Wiener et al., 1999 ; Kassis-Chikhani et al., 2004), ce qui signifie une augmentation du risque pour le patient d'être colonisé (Goldstein et al., 1995). D'autres facteurs de risque sont la malnutrition, l'hémodialyse, la nutrition parentérale totale, l'admission en réanimation ou l'hospitalisation préalable. (Pena et al., 1997 ; Lautenbach et al., 2001)

Enfin, une étude canadienne retrouvait chez les patients ayant une infection communautaire par *E. coli* BLSE 8 facteurs de risque : l'hémodialyse, l'incontinence urinaire, un cancer, une insuffisance rénale, un diabète et un voyage récent en Inde, en

Afrique ou au Moyen- Orient (**Laupland et al., 2008**).

### **III.5.4.Détection des BLSE**

Depuis leur apparition en 1983, les BLSE constituent un problème majeur de santé publique, il est donc nécessaire d'avoir des méthodes adéquates qui permettent de détecter les BLSE. Ces techniques sont classées en deux catégories : les techniques microbiologiques et les techniques moléculaires. (**Nordmann et al., 2012**).

#### **III.5.4.1. Techniques microbiologiques**

Les méthodes microbiologiques utilisent les inhibiteurs des bêta-lactamases tels que l'acide clavulanique en combinaison avec la céftazidime ou le céfotaxime. Le principe de ces méthodes est que l'acide clavulanique inhibe les BLSE et ainsi réduit le niveau de la résistance aux céphalosporines. (**Nordmann et al., 2012**).

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

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

- **La méthode proposée par le CLSI** : Le CLSI propose l'utilisation de la méthode de disque pour la recherche de la production de BLSE chez les entérobactéries. L'obtention d'un diamètre d'inhibition spécifique à chaque antibiotique permet de suspecter la production de BLSE. Cet institue propose, également, de réaliser les tests de dilution en mettant dans le milieu de culture 1µg/ml d'une de ces 5 bêta-lactamines (Aztréonme, Céfotaxime, Céftriaxone, céftazidime et Céfpodoxine) à spectre élargi. Les souches présentent une CMI (Concentration Minimale d'Inhibition) supérieur ou égale à 2 µg/ml seront suspectées comme productrice de BLSE (**NCCLS, 2005**).

- **Test du double disque :** Ce test est fait pour les souches qui ne présentent pas une image de synergie, avec diminution des diamètres des céphalosporines de 3ème génération et pour déterminer s'il y a production d'une BLSE. Il consiste à déposer un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de 3ème génération à une distance de 30mm (centre à centre), de laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante. Après diffusion, on enlève le disque d'AMC et le remplacer par un disque de CTX. Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3eme génération appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3eme génération seul, ce qui indique une production d'une BLSE(Nordmann *et al.*, 2012). .

#### **III.5.4.2. Techniques moléculaires**

Comme nous venons de le développer, la détection des souches productrices de BLSE par des techniques uniquement phénotypiques peut se heurter à des difficultés, ce qui a conduit au cours des dernières années au développement de différentes techniques de biologie moléculaire visant à rechercher directement la présence du support génétique au sein des souches isolées. Alors que certaines techniques comme le séquençage permettent la mise en évidence de nouvelles enzymes, d'autres s'appliquent plus volontiers à l'identification d'un clone caractérisé dans un contexte épidémique (PCR, SSCP, PCR en temps réel...). Ce caractère est donc particulièrement important dans le choix de la technique à mettre en oeuvre, tout comme la durée nécessaire qui varie selon la méthode utilisée.(A. Dubouix N et Marty, 2004)

#### **- Sondes d'ADN :**

Une des premières techniques de détection des BLSE a été basée sur la recherche de séquences complémentaires en utilisant des sondes d'ADN spécifiques des gènes TEM et SHV. Ce genre de technique a, une valeur historique mais semble relativement limitée en termes d'utilisation au laboratoire. En effet, de nombreux variants de TEM et SHV ont été cités depuis la description de cette technique, ce qui multiplie le nombre de sondes à mettre en œuvre. De plus, il semblerait que la méthode ne permette pas toujours de faire la différence entre les BLSE et les entérobactéries non productrices de BLSE et qu'il existe des difficultés à distinguer les variants de TEM et SHV.(Huovinen S *et al.* ,1988 et

**Arlet G et Philippon A, 1991).**

**- Oligotyping :**

La première méthode de détection des bêta-lactamases par oligotyping a été décrite à la fin des années 1980 par Ouellette *et al.* et permettait de détecter TEM-1 et SHV-2. Cette technique mettait en oeuvre des sondes oligonucléotidiques choisies de façon à détecter les zones de mutations par hybridation. (**Ouelette Met al.,1988**)

Quelques années plus tard, Mabilat et Courvalin ont développé d'autres sondes oligonucléotidiques pouvant être marquées soit avec un radioisotope, soit avec des nucléotides biotinylés. (**Mabilat C et Courvalin, 1990 ; Tham TN, 1990**) Les auteurs ont ainsi pu étendre la méthode à la détection de 6 autres variants du gène *bla*TEM. De manière intéressante, de nouveaux variants de TEM ont été mis en évidence grâce à cette technique. Cependant, étant donné le nombre de variants de TEM existant à l'heure actuelle, cette technique semble relativement lourde à mettre en oeuvre du fait de la nécessité d'une sonde spécifique de chaque type d'enzyme. Cette technique comme la précédente permet d'obtenir un résultat en 48 h alors que la PCR permet un gain de temps avec des résultats en 24 h. (**Mabilat C et Courvalin, 1990 ; Tham TN, 1990**)

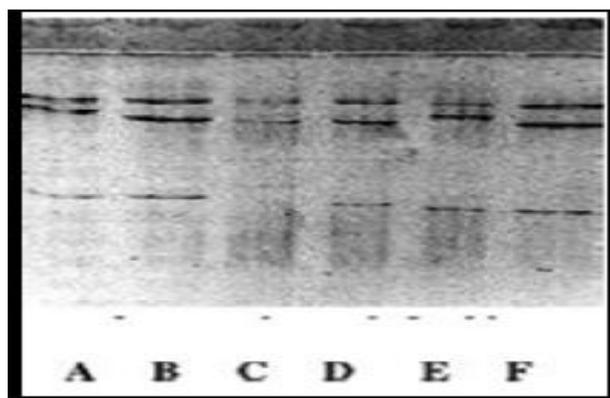
**- PCR :**

Une des méthodes moléculaires les plus sensibles et faciles repose sur l'amplification de chaque famille d'enzymes par des couples d'amorces spécifiques. Ces amorces peuvent être choisies après analyse du génome. Les oligonucléotides sont généralement choisis de façon à s'hybrider avec des régions relativement conservées. Cependant ce type de méthode pose un problème si elle n'est pas associée à une analyse complémentaire car elle ne permet pas de faire la distinction entre les différents variants de TEM et SHV et de par là même, ne permet pas la distinction entre les enzymes responsable d'un phénotype BLSE ou non-BLSE Il est donc intéressant de coupler l'amplification génique à certaines techniques (séquençage, RFLP et SSCP). (**Courvalin P,1991 ; Nuesch-Inderbinen MT et Hachler Hkh 1996**)

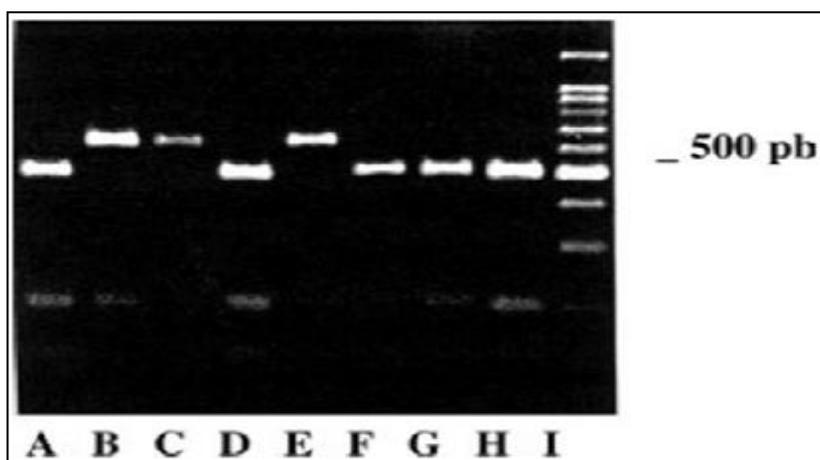
**-PCR-SSCP :**

La SSCP ou Single Strand Conformational Polymorphism est une méthode permettant la détection de polymorphismes génétiques par différence des profils de migration de fragments préalablement amplifiés. Comme le montre la Figure 16, cette méthode est particulièrement intéressante pour effectuer un screening relativement rapide (24 h de plus

par rapport à une PCR), en particulier d'éventuels mutants de SHV, mais ne peut en aucun cas apporter des informations sur le type de BLSE. De plus, le choix du fragment amplifié peut être un facteur limitant car, comme le montrent Chanawong *et al.*, cette technique ne permet pas de distinguer SHV-1, -3, -2a et -11 dans les conditions choisies par les auteurs. (Chanawong A *et al.*,2000).En effet, les 4 profils de migration obtenus sont totalement identiques car ces variants sont caractérisés par la présence d'une glutamine à la place d'une leucine en position 35 qui ne se trouve pas incluse dans le fragment choisi pour être analysé. De plus, les bactéries exprimant SHV- 5 et -12 ne peuvent pas être distinguées pour des raisons analogues. Dans le but d'affiner cette technique, il est donc conseillé de la coupler à d'autres techniques comme la PCR-RFLP (Figure 17). En revanche, elle permet de détecter de nouveaux variants de SHV ou de mettre en évidence la présence concomitante de plusieurs types de SHV dans une même souche bactérienne.( M'zali FHet *al.*,1996)



**Figure 16:** analyse des enzymes de la famille SHV par PCR-SSCP(A. Dubouix N et Marty, 2004)



**Figure 17:** analyse des enzymes de la famille SHV par PCR-RFLP (A. Dubouix N et Marty, 2004)

**- PCR-RFLP :**

Une autre approche réside dans l'utilisation d'enzymes de restriction après amplification génique des séquences. Cette technique a essentiellement été appliquée à la détection des BLSE de la famille TEM au début des années 1990. (Arlet G *et al.*,1995) Dans ce type de test, les amplifiats sont digérés par plusieurs enzymes de restriction (*Sau3aI*, *HhaI*, *MseI*) avant d'être soumis à une électrophorèse. De cette manière, Arlet *et al.* ont été à même de détecter la présence de plus de 20 enzymes de la famille TEM et ont notamment permis de mettre en évidence TEM-29.(Arlet *Get al.*,1995) Quelques années plus tard, la méthode a ensuite été appliquée à la détection des mutants de la famille SHV.

Nüesch-Inderbinen *et al.* ont ainsi couplé l'amplification de séquences du gène *blaSHV* à la digestion par *NheI* permettant la détection de la mutation en position 238 la plus fréquente chez les BLSE et responsable de la substitution d'une glycine en sérine au niveau du site actif de l'enzyme.(Chanawong A *et al.*,2000) Bien que cette technique ne puisse déterminer avec précision le type de variant de SHV impliqué, elle présente cependant l'avantage majeur de permettre un screening relativement rapide d'éventuelles BLSE, on peut ainsi obtenir un résultat en environ 48 h après l'isolement. Différents auteurs ont par la suite évalué cette technique par rapport à la détection par E-test (C3G additionnée ou non d'acide clavulanique) et ont pu montrer que seulement 52 % des souches BLSE étaient détectées par ce dernier alors que la PCR-RFLP permettait une détection systématique.(Bedenic *Bet al.*, 2001) Cependant, la méthode peut être limitée pour détecter certaines mutations. Ainsi SHV-3, -4, -7 et -13 sont difficilement identifiables par PCR-RFLP.(M'zali FH et Gascoyne-Binzi *DMet al.*,1996)

Une modification de cette technique peut consister en l'insertion d'un site de restriction (RSI-PCR). Comme l'on récemment montré Chanawong *et al.*, cette méthode s'applique à la détection des mutants SHV de manière rapide et simple.(Chanawong A et M'zali *Fhet al.*, 2001) Elle est basée sur l'utilisation d'amorces à l'intérieur desquelles il existe 1 à 3 bases non complémentaires au niveau de l'extrémité 3' de façon à modifier le site de restriction de différentes enzymes (*SspI*, *HinfI*, *PstI*, *BsrI* et *NruI*). Il est ainsi possible de détecter certains mutants dont la détection n'est pas toujours évidente comme SHV-6, -8, -14, -18 à -23 ainsi que SHV-25 à -27. Ainsi la RSI-PCR permet d'étendre la détection à 27 variants grâce à la technique de RFLP. .(Chanawong A et M'zali *Fhet al.*, 2001)

Une dernière possibilité consiste à coupler la PCR-RFLP à un screen ingréalable par la technique de SSCP. (M'zali FH et Heritage *Jet al.*, 1998)

Cette méthode, développée au début des années 2000, permet de détecter des mutations ponctuelles portant sur des sites bien définis du gène *blaSHV*. (**M'zali FH et Heritage Jet *al.*, 1998**)

Dans ce test, des fragments de 475 pb sont générés par une amplification faisant intervenir des amorces internes à la séquence codant pour le gène *blaSHV*.

Les fragments sont ensuite soumis à une digestion par *PstI*, puis dénaturés. Une électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 20 % complète l'analyse. De cette façon, les gènes codant pour SHV-1, -2, -3, -4, -5 et -7 peuvent être détectés. (**Chanawong A *et al.*, 2000**)

De plus, Chanawong *et al.* ont montré que si l'on combine les techniques de PCR-SSCP et PCR-RFLP, on peut détecter jusqu'à 17 variants de SHV.

Cependant, SHV-2a ne peut pas être distingué de SHV-2, tout comme SHV-15 de SHV-5. (**Chanawong A *et al.*, 2000**)

#### **- Ligase Chain Reaction :**

Cette méthode est essentiellement appliquée à la détection des gènes SHV. (**Kim J et Lee HJ, 2000**) La Ligase Chain Reaction ou LCR permet la discrimination de séquences d'ADN différant par une seule paire de bases grâce à l'utilisation d'une ligase thermostable et d'amorces composées de 4 oligonucléotides complémentaires de la séquence cible et s'hybridant les unes à côté des autres. Une seule différence de base au niveau de la jonction entre les nucléotides entraînera un défaut de ligation se traduisant par une absence d'amplification. Dans ce type de test, l'ADN cible contenant le gène *blaSHV* est dénaturé dans un thermocycleur et hybridé avec des oligonucléotides biotinylés pouvant détecter des mutations présentes en 4 positions. La production de la LCR est détectée par une réaction enzymatique faisant intervenir la NADPH-phosphatase alcaline. Cette méthode permet de détecter jusqu'à 7 variants en 24 h. (**A. Dubouix et Marty, 2004**)

#### **- PCR en temps réel :**

Cette technique en plein essor au niveau du diagnostic bactériologique a été appliquée à la détection des mutants de SHV au début des années 2000 par Randegger *et al.* (**Randegger CC et Hachler H, 2001**) (Figure 18). Elle fait intervenir des sondes oligonucléotidiques marquées par un fluorophore permettant l'analyse des courbes de fusion des amplifiats en temps réel sur un Light Cycler. Les auteurs ont ainsi appliqué

cette technique à la détection de mutations présentes au niveau de 3 codons majeurs (en position 179, 238 et 240) du gène *blaSHV* au cours d'une seule et même réaction. L'avantage majeur de cette technique réside dans sa simplicité et sa rapidité. En effet, il est ainsi possible d'obtenir des résultats en moins d'une heure. Pour le moment, elle ne s'adresse qu'à la détection des mutants SHV mais pourra être adaptée d'une part à la recherche de mutants nouvellement décrits dans cette famille ainsi qu'à la détection des variant TEM nécessitant le *design* des amorces spécifiques de mutations recherchées. Cependant, elle ne s'adresse à l'heure actuelle qu'aux laboratoires possédant un appareillage spécifique. (A. Dubouix et Marty, 2004)

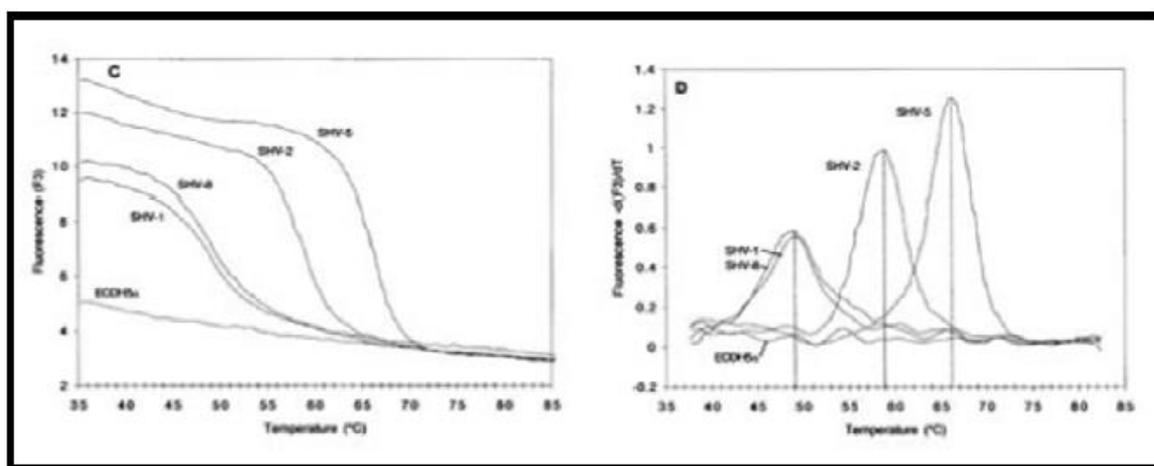


Figure 18 : PCR en temps réel(A. Dubouix et Marty, 2004)

#### -Séquençage :

Le séquençage reste la technique de choix pour la détection des BLSE. Bien que réservée à des laboratoires équipés d'un appareillage adéquat, cette méthode permet par comparaison avec les séquences obtenues des bases de données (GENBANK, CLUSTAL W) de détecter simultanément toutes les BLSE en environ 24 h sans disposer de sondes spécifiques de chaque mutation. Dans le passé, certains résultats plus ou moins variables pouvaient être attribués à la technique de détection mise en oeuvre. (Bradford PA, 1999) En effet, il est possible que la variabilité de séquence observée pour certains variants SHV soit liée à la difficulté d'interprétation des autoradiogrammes plutôt qu'à de véritables variations de séquences, phénomène duquel on s'affranchit avec les nouveaux analyseurs.(A. Dubouix et Marty, 2004)

**-Mini séquençage :**

Une variante très simplifiée de la technique précédente a été développée en b 2001 par Howard et *al.* Elle consiste à réaliser un mini-séquençage basé sur le changement du premier nucléotide. (**Howard Cet *al.*, 2002**) Cette méthode a été décrite pour la mise en évidence de mutations de l'angiotensinogène(**Jalanko A et *al.* , 1992**), du CFTR, ou encore de l'ADN mitochondrial. Elle se base sur l'hybridation d'une amorce immédiatement après le site susceptible d'être muté et l'identification du nucléotide de la base incorporée.

L'avantage de cette technique est qu'elle peut être réalisée en microplaques et peut être facilement automatisée. Cependant, à l'heure actuelle, elle n'a été développée que pour la détection des variants SHV.(**A. Dubouix et Marty, 2004**)

Chapitre IV  
Analyse d'un article  
de recherche  
sur  
des entérobactéries productrices du BLSE dans  
la région de Djelfa

## Chapitre IV :

Analyse d'un article de recherche sur les entérobactéries productrices du BLSE dans la région de Djelfa

### IV.1. Objectif

Le présent chapitre a pour objectif d'analyser un article scientifique intitulé : “**Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from chicken markets in the Center of Algeria, with detection of CTX-M-55 and B2/ST131-CTX-M-15 in *E. coli*”**”, dont la première partie de l'étude expérimentale (isolement des souches bactériennes) a été réalisé par des étudiants de la faculté SNV de l'université de Djelfa lors de la réalisation de leurs mémoires de fin d'étude « Master », au cours de la période 2016-2018. L'article est présenté en annexe.

### IV.2. Présentation de l'article

Il s'agit d'un article de recherche de type « a full lengthre search article » publié le 29 juin 2020 dans la revue scientifique américaine « Microbial Drug Resistance » de facteur d'impact évalué à 2.296. Le plan de cet article est de type IMRED pour « Introduction, Matériel et méthodes, Résultats Et Discussion ». Il contient également un résumé, 7 mots clés et 58 références bibliographiques.

### IV.3. Objectif et originalité de l'étude

L'objectif de l'article consiste à évaluer la prévalence des entérobactéries productrices de BLSE (*E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*) isolées à partir de foie de poulets de chair destiné à la consommation humaine et commercialisé dans les marchés de poulets de la région de Djelfa et analyser leurs caractéristiques phénotypiques et génotypiques. Pour ce qui est de l'originalité de cet article, elle réside dans le fait de détecter, pour la première fois en Algérie et la deuxième fois en Afrique, le gène *ctx-M-55* codant pour une bêta-lactamase à spectre étendu chez une souche d'*E. coli*. Il décrit également la détection d'un clone pandémique B2/ST131-CTX-M-15*E. coli*.

### IV.4. Analyse du titre

Le titre qui a été choisi pour cet article est plus au moins court. Il reflète et annonce le contenu du texte avec un maximum de précision et de concision. Il contient un ensemble de mots informatifs comme : ESBL, détection, Algeria et CTX-M-55.

#### IV.5. Analyse du résumé

Le résumé de cet article est constitué de 278 mots ; il peut être lu indépendamment du reste de l'article et est compréhensible en soi. Il est rédigé minutieusement en trois parties distinctes :

- Objectif de l'étude et contexte global (environ 25% du résumé) ;
- Partie expérimentale (environ 25% du résumé, trois phrases sont rédigées et la forme passive est utilisée) ;
- Principaux résultats : Résultats majeurs et nouveautés (environ 50% du résumé).

#### IV.6. Analyse de l'introduction

L'introduction du présent article comporte trois parties principales :

**Domaine de recherche :** les auteurs de cet article ont parlé du sujet de l'émergence et de l'explosion à l'échelle mondiale de bactéries résistantes aux antibiotiques. Ils ont précisé que la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) continuait à être l'un des mécanismes de résistances les plus importants, notamment chez les entérobactéries. Une importance particulière a été accordée aux principaux gènes codant pour les BLSE à savoir : CTX-M, SHV et TEM ;

**Frontière et problématique de recherche :** Dans cette partie, il a été signalé que très peu d'études ont été réalisées sur la survenue de bactéries productrices de BLSE dans les aliments d'origine animale commercialisés dans les marchés algériens. Dans la société algérienne, le foie du poulet est devenu largement consommé par les adultes et est utilisé dans la préparation de sandwichs dans les fast-foods et les restaurants. Une fois mal cuit, ce foie peut être à l'origine d'un risque d'intoxication alimentaire.

**Objectif de l'étude :** A la fin de l'introduction, l'objectif a été mentionné. Il consiste à évaluer la prévalence des entérobactéries (*E. coli* et *K. pneumoniae*) productrices de BLSE isolées de foie de poulet commercialisé dans les marchés de la région de Djelfa.

#### IV.7. Analyse de Matériel et méthodes

Les expériences de cette étude se sont déroulées en plusieurs étapes comme suit :

Un total de 136 échantillons de foie de poulets de chair a été prélevé au hasard durant la période allant du 2016 à 2018, à partir des marchés de détail situés dans six provinces de la région de Djelfa, à raison de 1 échantillon par vendeur: 85 échantillons de Djelfa, 14 d'Ain Ouessara, 12 de Hassi Bahbah, 11 de Messaad, 8 de Znina, et 6 d'Ain Maabad. Les échantillons ont été transportés avec précision au laboratoire dans sous un régime de froid

et ont été analysés le même jour.

À l'arrivée, la surface de chaque échantillon de foie était flambée en utilisant un bec Bunsen pour éliminer toute contamination superficielle. Ensuite, les foies ont été coupés de manière aseptique en petits morceaux, et deux à trois d'entre eux ont été enrichis dans un bouillon BHI. L'incubation a été faite à 37 C pendant 24 h. Ensuite, la culture enrichie a été inoculée sur des boîtes d'agar Hektoen et incubée à 37 C pendant 24 h. Les colonies présomptives d'être *E. coli* ou *K. pneumoniae* (lactose positif et H<sub>2</sub>S négatif) ont été purifiées et identifiées, en utilisant la coloration de Gram, test oxydase, TSI et les galeries API 20E système (BioMérieux, France). L'identification a été vérifiée par le Maldi-TOF-MS.

Le reste du protocole est illustré dans le schéma suivant :

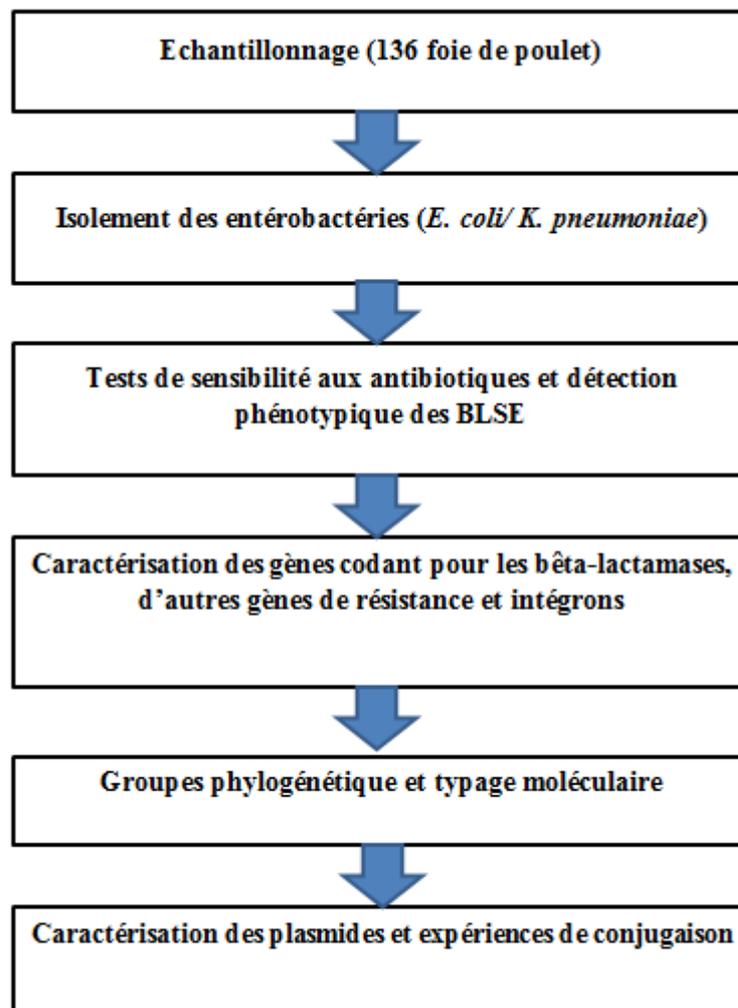


Figure 19 : Protocole expérimental de l'étude.

#### IV.8.Analyse des Résultats

Les résultats de cet article ont été présentés dans trois titres indépendants (figure20) et dans 2 présentations graphiques (tableaux). Ils ont été synthétisés d'une façon cohérente et avec une clarté absolue. Les principaux résultats de cette étude sont :

- Parmi les 136 échantillons de foie testés, 78 contenaient *E. coli* ou *K. pneumoniae* (57,5%) et 73 *E. coli* et 5 *K. pneumoniae* ont été récupérés (1 isolat par échantillon positif) ;
- Des taux de résistance élevés ont été détectés chez les isolats d'*E. coli* à l'encontre de la tétracycline (98,6%), l'acide nalidixique (86,3%), le triméthoprim /sulfaméthoxazole (72,6%), l'ampicilline (71,2%), l'enrofloxacin (60,2%) et l'amoxicilline / acide clavulanique (57,5%) ;
- 8 souches d'*E. coli* et les 5 isolats de *K. pneumoniae* ont été producteurs de BLSE (taux de 5,9% et 3,7% respectivement). Les cinq *K. pneumoniae* producteurs de BLSE portaient le gène *bla* CTX-M-15. Les gènes détectés chez *E. coli* étaient les suivants: *bla*CTX-M-1 (trois isolats), *bla* CTX-M-15 (trois isolats), *bla* CTX-M-55 (un isolat),et *bla* SHV-12 (un isolat). Autres gènes de la bêta-lactamase à spectre étroit(*bla*SHV-1 et / ou *bla* TEM-1) étaient présents dans six isolats BLSE, en association soit avec le *bla* CTX-M-15 gène (un *E. coli* et quatre isolats de *K. pneumoniae*) ou le gène *bla*SHV-12 (un isolat d'*E. coli*) ;
- Les isolats d'*E. coli* producteurs de BLSE ont été attribués aux lignées suivantes [phylogroupe / séquence type / type BLSE(nombre d'isolats)]: A / ST48 / SHV-12 (1), B1 / ST6448 / CTXM-55 (1), B1 / ST5087 / CTX-M-1 (3), B1 / ST23 / CTX-M-15 (1),et B2 / ST131 / CTX-M-15 (2). De plus, les isolats de *K. pneumoniae* ont été attribués aux séquences types ST2010 (trois isolats)et ST3483 (deux isolats) ;
- Les quatre variantes BLSE ont été transférées avec succès dans sept des neuf souches productrices de BLSE testées par conjugaison. Les transconjugants portant les gènes *bla* CTX-M ont également acquis les plasmides IncK et Inc11 dans trois *E. coli* et un isolat de *K. pneumoniae*, respectivement. Cependant, le transfert du gène *bla*SHV-12 est survenu en association avec l'acquisition des plasmides IncFIB et Inc11, et de la tétracyclineet la résistance aux sulfamides. Dans les deux autres transconjugants, toutes les PCR avec les réplicons testés

étaient négatives.

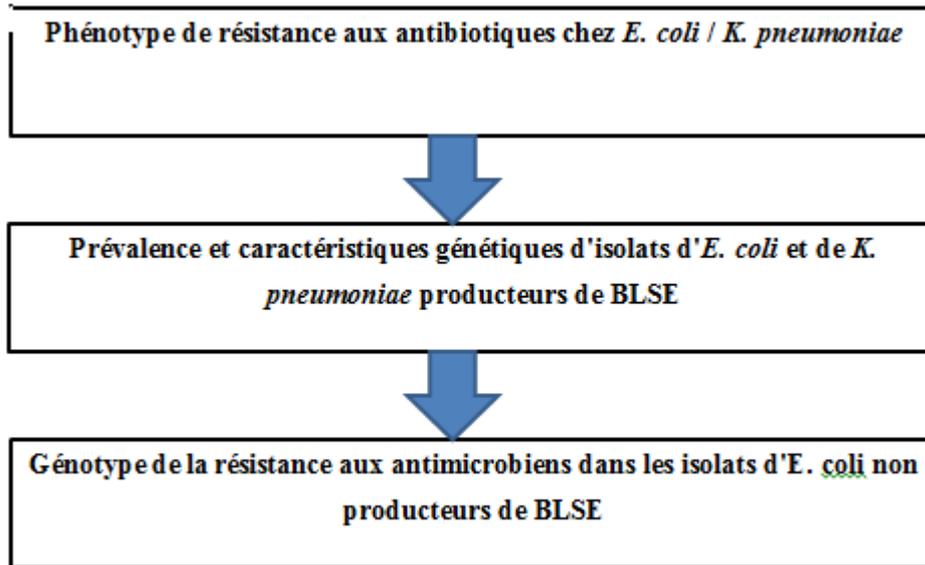


Figure 20 : Titres abordés présentés dans les résultats.

#### IV.9. Analyse de la conclusion

Elle a été formulée très clairement en rappelant le principal résultat de l'étude. Les perspectives de cette étude ont également été fusionnées dans cette partie.

#### IV.10. Références bibliographiques.

Elles ont été citées selon leur ordre d'apparition dans le texte (système numérique). La majorité de ces références étaient des articles de recherche et de synthèse.

Le tableau ci-après résume l'analyse des différentes parties de cet article.

**Tableau 03** : Grille d'analyse de la rigueur du contenu de l'article étudié

	<b>Qualité</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>
<b>Titre</b>	Court	+/-	
	Clair	+	
<b>Résumé</b>	Court	+	
	Clair	+	
	Explicatif	+	
<b>Introduction</b>	Informative	+	
	Descriptif du contexte	+	
	Objectif énoncé	+	
<b>Matériel et méthodes</b>	Précis dans la démarche	+	
	Type d'étude menée décrit	+	
<b>Résultats</b>	Résultats précis	+	
	Résultats objectifs	+	
	Résultats cohérents	+	
	Objectif atteint	+	
<b>Discussion</b>	Résultats synthétisés	+	
	Résultats comparés	+	
	Ouverture du travail	+	
<b>Bibliographie</b>	Respectueuse des normes	+	
	Étayée	+	
	Exacte	+	

**CONCLUSION**

## Conclusion

---

Les entérobactéries occupent une place importante en bactériologie médicale et alimentaire et le rôle du laboratoire reste prépondérant dans l'identification de ces germes et dans l'évaluation de leur niveau de résistance aux antibiotiques. Trois décennies après leur découverte, les souches productrices de BLSE étaient isolées principalement dans les unités de soins intensifs. Elles constituent, aujourd'hui, un problème majeur de santé publique et plus que jamais avec la diffusion massive des BLSE de type CTX-M aussi bien dans le milieu hospitalier que dans le milieu communautaire.

Nous avons essayé de donner dans ce manuscrit un aperçu général sur les mécanismes de résistance des entérobactéries aux antibiotiques, notamment à la famille des bêta-lactamines ; et ceci, par production d'enzymes de type BLSE qui continue à constituer à l'heure actuelle l'un des mécanismes les plus pertinents. Dans le dernier chapitre, nous avons également essayé d'analyser un article portant sur le sujet des BLSE et dont l'isolement des bactéries a été réalisé par des étudiants de la faculté de SNV de l'université de Djelfa.

Finalement, nous soulignons la nécessité d'une protection adéquate des animaux et des consommateurs contre les bactéries résistantes. A cet effet, il faut mettre en œuvre la surveillance bactériologique des différents produits alimentaires et des troupeaux de poulet, l'optimisation de l'antibiothérapie tout en restreignant l'utilisation anarchique des antibiotiques ainsi que l'introduction de bonnes pratiques de contrôle de l'hygiène.

# Références bibliographiques

## Référence bibliographique

---

### A

- Abbassi, S.M., B. Hassen, S. Zniter, A. Dimassi, et R. Mansouri., 2017-**ESBL/Cephalosporinase-Producing *Escherichia coli* from retail poultry meat in Tunisia: Predominance of blaCTX-M gene and multi-drug resistance. *J. Microbes Microbio. Tech.* 1102.
- Abbott S.L., 2007-***Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. Manual of Clinical Microbiology.* Washington, DC : ASM press 9: 698-715.
- Abid F., Nafissa B., Mazouz D., et Noureddine B.,2007-***Klebsiella Pneumoniae* productrices de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba, Algérie. *Scientific study & research* 8:199-214
- Alonso, C.A., M. Zarazaga, R. Ben Sallem, A. Jouini, K. Ben Slama, et C. Torres., 2017-** Antibiotic resistance in *Escherichia coli* in husbandry animals: the African perspective. *Lett. Appl. Microbiol.* 64:318–334.
- Alouache, S., M. Kada, Y. Messai, V. Estepa, C. Torres, et R. Bakour., 2012-** Antibiotic resistance and extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in isolated bacteria from seawater of Algiers beaches (Algeria). *Microbes Environ.* 27: 80–86.
- Ambler R P., 1980-**The structure of  $\beta$ -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 289: 321–331.
- Ambler, R.P., Coulson, A.F.W., Frère, J.M., Ghuysen, J.M., Joris, B., Forsman, M., Levesque, R.C., Tiraby, A., and Waley, S.G.,1991-** A standard numbering scheme for the class A  $\beta$ -lactamases. *Biochem. J.* 276: 269-270.
- Ansart, S., Xavier, N., Yvon, L., Pennec, Michel, G., 2005 -** Quand utiliser une fluoroquinolone systémique ? *Revue* 29609 Brest Cedex.
- Arlet G, Bami G, Decrere D, et al., -**Molecular characterization by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM  $\beta$ -lactamases. *FEMS Microbiol Lett* 1995; 134: 1498-1500.
- Arlet G, Philippon A., 1991 -**Construction by polymerase chain reaction and intragenic DNA probes for three main types of transferable  $\beta$ -lactamases (TEM, SHV, CARB). *FEMS Microbiol Lett* 1991; 82: 19-26.
- Arlet, G., and Philippon, A.,2003-** Les nouvelles  $\beta$ -lactamases à l'aube du troisième millénaire. *Rev Franç Lab.* 352 : 41-55.
- Asensio, A., Oliver, A., Gonzalez-Diego, P., Baquero, F., Perez-Diaz, J.C., Ros, P., Cobo, J., Palacios, M., Lasheras, D., and Canton, R., 2000 -** Outbreak of a

## Référence bibliographique

---

multiresistant *Klebsiellapneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. *Clin Infect Dis.* 30: 55–60.

**Avril J.L., Dabernat H., Denis F. & Monteil H., 2000** - Bactériologie clinique, *Ellipses 2ieme edition*, Paris, France, 602 p.

**Avril, J.L et al.,2000** - Bactériologie clinique. 2ed .Ellipses, Paris. pp. 171-177.

### B

**Babic M, Hujer A, Bonomo R., 2006** - What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. *Drug Resistance Updates* 9(3): 142–156.

**Bachiri, T., S. Bakour, R. Ladjouzi, L. Thongpan, J.M. Rolain, et A. Touati., 2017** - High rates of CTX-M-15- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in wild boars and Barbary macaques in Algeria. *J. Global Antimicrob. Resist.* 8:35–40.

**Bacon, R.T. et al.,2003-** Comparative analysis of acid resistance between susceptible and multi-antimicrobial-resistant *salmonella* strains cultured under stationary-phase acid tolerance inducing and non-inducing conditions. *Journal of food Protection.* 66: 732-740.

**Bakhoum I.M.N.S., 2004** - Contrôle de qualité et validation de différentesmicro méthodes d'identification bactérienne. Thèse de Pharmacie., Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal, 113 p.

**Barrial K, Scotet J., 2006** - Classification raisonnée des  $\beta$ -lactamases chez les bacilles Gram négatif. Perspective d'évolution. *Tigaud de bactériologie.* 3-10.

**Barrial K. & Scotet J., 2006** - Classification raisonnée des  $\beta$ -lactamases chez les bacilles Gram négatif. Perspective d'évolution. *Tigaud de bactériologie,* 10 p.

**Basilio, J.A., 2009** - *Serratia*. eMedicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Sur le lien : <http://emedicine.medscape.com/article/228495-overview>.

**Bedenic B, Randegger C, Boras A, et al., 2001** - Comparison of five different methods for detection of SHV extended-spectrum betalactamases. *JChemother* 2001; 13: 24-33.

**Belbel Z., 2013** - Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse de doctorat d'état., université Badji Mokhtar. Annaba, 146p.

**Belmahdi, M., S. Bakour, C. Al-Bayssari, A. Touati, et J.M. Rolain., 2016** - Molecular characterization of extended-spectrum b-lactamase- and plasmid AmpCproducing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Be'jaï'a, Algeria. *J.*

## Référence bibliographique

---

Glob. Antimicrob. Resist. 6:108– 112.

**Ben Sallem, R., K. Ben Slama, Y. Sa'enz, B. Rojo-Bezares, V. Estepa, A. Jouini, H. Gharsa, N. Klibi, A. Boudabous, et C. Torres., 2012** - Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)–and CMY-2 Producing *Escherichia coli* isolates from healthy food producing Animals in Tunisia. *Foodborne Pathogens Dis.* 9:1137–1142.

**Benameur, Q., D. Guemour, A. Hammoudi, K. Aoudia, H. Aggad, M.H. Humblet, et C. Saegermang., 2014** - Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens in West of Algeria., *Int. J. Sci. Basic Appl. Res.* 13:366–370.

**Benmouden A et Hakkou F., 2007** - Antibiotiques : Mécanismes d'action et de résistance. Service de Pharmacologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc. *La Chronique Ibn Rochd.* 1: 46-54.

**Benz R., 2004** - Bacterial and Eukaryotic Porins : Structure, Function, Mechanism. Roland Benz, 382 p.

**Berg RD. 1996** - The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol* 4:430–435.

**Blaak, H., R.A. Hamidjaja, A.H. Van Hoek, L. De Heer, A.M. De Roda Husman, et F.M. Schets., 2014** - Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* on flies at poultry farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 80:239–246.

**Bonnet, R., 2006** -  $\beta$ -Lactamines et entérobactérie .In Courvalin P, Leclercq R, Bingen E. *Antibiogramme* . Edition ESKA.pp.141-177.

**Boujemaa, D., 2015** - Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae*. Thèse de doctorat. Tlemcen ., Université Abou Bekr Belkaid ., Tlemcen. 133p.

**Bradford PA., 2001-** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat.

**Brahmi, S., C. Dunyach-Re'my, A. Touati, et J.P. Lavigne., 2015-** CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. *Clin. Microbiol. Infect.* 21:e18–e20.

**Brin'as, L., M.A. Moreno, T. Teshager, Y. Sa'enz, M.C. Porrero, L. Domínguez, et C. Torres., 2005** - Monitoring and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain in 2003. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1262– 1264.

## Référence bibliographique

---

**Brown Kevin., 2020** - Alexander Fleming biography. En ligne <https://www.britannica.com/biography/Alexander-Fleming> . Consulté le 15 aout 2020 .

**Bryskier A., 1999** - Antibiotiques agents antibacteriens et antifongiques. *Editions Ellipses*, 1216 p.

**BryskierA., 1999** - Evolution de la chimiothérapie antibactérienne. Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Ellipses Ed. Paris. 747.

**Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA., 1995** - A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1995 **39**(6): 1211–33. *Clinical Microbiology Reviews* **14**(4): 51–933.

### C

**Canto'n, R., J.M. Gonza'lez-Alba, et J.C. Gala'n.,2012-** CTX-M Enzymes: origin and diffusion. *Front. Microbiol.* 3:110.

**Carattoli, A., 2001-** Importance of integrons in the diffusion of resistance. *Veterinary. Research.*32: 243-259.

**Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G, Daikos GL, Garau J, Harbarth S, Rossolini GM, Souli M, Giamarellou H., 2010** - Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives : therapeutic approach and infection control. *Clin Microbiol Infect* **16**:102–11.

**Carniel E., 1999-** The Yersinia high-pathogenicity island. *International Microbiology*, **2** : 161- 167.

**Casella, T., M.C.L. Nogueira, E. Saras, M. Haenni, et J.Y. Madec., 2017-** High prevalence of ESBLs in retail chicken meat despite reduced use of antimicrobials in chicken production, France. *Int. J. Food Microbiol.* 257: 271–275.

**Cattoir, V., 2012** - Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. Rev Elsevier Masson SAS.

**Cavallo, J.D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., and Garrabé, E., 2004-** Bêtalactamines. *EMC Maladies infectieuses.* 1: 129-202.

**Chanawong A, M'zali Fh, Heritage J, et al., 2000** - Characterization of the extended spectrum  $\beta$ -lactamases of the SHV family using a combination of PCR-single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) and PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *FEMS Microbiol Lett* 2000; 184: 85-9.

**Chanawong A, M'zali Fh, Heritage J, et al., 2001** -Discrimination of SHV  $\beta$ lactamases genes by restriction site insertion-PCR. *Antimicrob Agents Chemother*

## Référence bibliographique

---

2001; 45: 2110-4.

**Changeur, N., Cherruault, M., 2009** - Pharmacologie des aminosides (aminoglycosides). 3P.characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin*

**Charlier, P., Coyette, J., Dehareng, D., Dive, G., Duez, C., Dusart, J., Fonzé, E., Fraipont, C., Frère, J.M., Galleni, M., Goffin, C., Joris, B., Lamotte-Brasseur, J., et Nguyen-Distèche M., 1998** - Résistance bactérienne aux  $\beta$ -lactamines. Synthèse. médecine/sciences. 14 : 544-555.

**Chopra I., 1998** - Research and developpement of antibacterial agents. Current opinion in Microbiology. 1:495-501.

**Chow, J.W., Fine, M.J., Shlaes, D.M., Quinn, J.P., Hooper, D.C., Johnson, M.P., Ramphal, R., Wagener, M.M., Miyashiro, D.K., and Yu, V.L., 1991** - *Enterobacter* bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. *Ann Intern Med.* 115(8): 585-590.

**Chung, K.I., Lim, T.H., Koh, Y., Song, J.H., Kim, W.S., Choi, J., et Mand Aush, Y.H., 1992** - Nosocomial pneumonial in medico-surgical intensive care unit. *J Korean Med Sci.* 7:241-251.

**CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute., 2018** - Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI, USA.

**Comte D, Petitpierre S, Spertini F, Bart P.-A., 2012** - Allergie aux b-lactamines. *Revue Médicale Suisse* 8 : 836-42.

**Cottell, J.L., M.A. Webber, N.G. Coldham, D.L. Taylor, A.M. Cerdenõ-Ta´rraga, H. Hauser, N.R. Thomson, M.J. Woodward et L.J. Piddock., 2011**- Complete séquenceand molecular epidemiology of IncK epidemic plasmid encoding blaCTX-M-14. *Emerg. Infect. Dis.* 17:645– 652.

**Courvalin P.,1991** -Phenotypic approach to the study of bacterial resistance to antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1019-23.

**Courvalin P., Leclercq R. et Bingen E., 2006** - Antibiogramme. *Eska, 2ieme edition, Paris*, 500 p.

**Courvalin P, Drugeon H, Flandrois J.P, Goldstein, F., 1991** - Bactericidie: aspect théoriques et thérapeutiques ; édition maloine. Pages, 13, 14, 23, 26.

### D

**Davison, J., 1999** - Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid.* 42, 73- 91.

## Référence bibliographique

---

- Dbaibo, G.S., 2000** - Old and new targets of antibacterial therapy. *Leb Med J.* 48: 177-181.
- De la Cruz Fet Davies J., 2000** - Horizontal gene transfer and the origin of species : lessons from bacteria. *Trends Microbiology*, **8** : 128-133.
- Decoster A. & Lahieu J.C., 2006.** Cours de Bacteriologie : Les enterobacteries. Disponible sur en ligne : [http ://anne.decoster.free.fr/bgn/enterob.html](http://anne.decoster.free.fr/bgn/enterob.html). 2006. Consulte le 25 Mars 2020
- Denis F. et Ploy M C., 2007-** Bactériologie médicale: techniques usuelles. Elsevier Masson. p 316-318.
- Doi, Y., A. Iovleva, et R.A. Bonomo., 2017-** The ecology of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) in the developed world. *J. Travel Med.* 24:S44–S51.
- Domingues, S., G.J. Da Silva, et K.M. Nielsen., 2012-** Integrons: Vehicles and pathways for horizontal dissemination in bacteria. *Mob. Genet. Elements.* 2:211–223.
- Dong, F., Y. Zhang, K. Yao, J. Lu, L. Guo, S. Lyu, Y. Yang, Y. Wang, H. Zheng, W. Song, and G. Liu., 2018** -Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections in a Chinese Children’s Hospital: Predominance of New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase-1. *Microb. Drug Resist.* 24:154–160.
- Dortet L, Bréchar L, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P., 2014** - Strategy for Rapid Detection of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **58**(4) : 2441–2445.
- Drame B., 2001** - Micro méthode d’identification et d’étude de la sensibilité des entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. Thèse Pharm. Dakar. N° 86.
- Drancourt M., 2007** - *Klebsiella pneumoniae*. In Freney J, Renaud F, Leclerecq R, Riegel P. Précis de bactériologie clinique. Edition ESKA. pp. 1111-1114.
- Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V., 2008** - Phenotypic detection of extended spectrum  $\beta$ -lactamase production in *Enterobacteriaceae*: review and bench guide. *Clinical Microbiology and Infection.* **14**(1) :90–103.
- Dubouix N, Marty., 2004** -Détection des enterobacteries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu par biologie moléculaire avantages, limites. *Antibiotiques* 2004 ; 6 : 193-201.

### E

- Emmanuel E., 2003** - Evaluation des risques sanitaires et eco -toxicologiques lies aux effluents hospitaliers. L’institut national des sciences appliquées de LYON pour l’obtenir de grade du docteur. Formation doctorale: science et technique du déchet

## Référence bibliographique

---

école doctoral de chimie de Lyon.pp. 59-60.

**Euzéby J.P., 2003**) - Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. *Serratia*. En ligne : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/>. Consulté le 16 aout 2020.

**Ewers, C., M. Grobbel, I. Stamm, P.A. Kopp, I. Diehl, T. Semmler, F. Fruth, J. Beutlich, B. Guerra, L.H. Wieler, et S. Guenther., 2010** - Emergence of human pandemic O25: H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum-b-lactamase producing *Escherichia coli* among companion animals. *J. Antimicrob. Chemother.* 65:651–660.

### F

**Falgenhauer, L., C. Imirzalioglu, K. Oppong, C.W. Akenten, H. Benedikt, K. Ralf, R. Sven, L. Vinzent, S. Oliver, S. Nimako, O. Ellis, M. Juergen, et E. Daniel., 2019** - Detection and Characterization of ESBL-Producing *Escherichia coli* From Humans and Poultry in Ghana. *Front. Microbiol.*9:3358.

**Fauchère J.L et Avril J.L., 2002** - Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing. Paris. pp. 250-260.

**Ferron A., 1984** Bactériologie médicale *Editions C. et R.;*(3, 14, 15):3-2- 15-6.

**Fisher J.F, Meroueh, S.O et Mobashery, S., 2005-** Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chem Rev.* 105: 395-424.

**Flandrois J.C., Courco L., Lemeland J.F., Ramuc M., Sirot J. et Souny C.J., 1997** - Bactériologie médicale. Pesses Universitaire de Lyon. ISBN : 2729705678.

**Follath F., Costa E., Thommen A., Frei R., Burdeska A., et Meyer J., 1987** - Clinical consequences of development of resistance to third generation cephalosporins. *Eur J Clin Microbiol.* 6(4): 446-450.

**Fraser S. L., Arnett M., et Sinave C.P., 2010** - *Enterobacter* Infections. Medicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Contributor Information and Disclosures.

**Frenot M., Vierling E., 2001** - Biochimie des aliments diététique du sujet bien portant, 2<sup>ème</sup> édition. Doin Collection biosciences et technique. Paris. 297p.

**Freter R, Brickner H, Fekete J, Vickerman MM, Carey KE, Carey E. 1983** - Survival and implantation of *Escherichia coli* in the intestinal tract. *Infect Immun* 39:686–703.

### G

**Gangoue-Piéboji J, Koulla-Shiro S, Ngassam P, Adiogo D, Ndumbe P., 2006** - Antimicrobial activity against gram negative bacilli from Yaounde Central Hospital,

## Référence bibliographique

---

Cameroon. *African Health Sciences* 6(4): 232–5.

**Gassama A.S., 2004** - Etude du rôle des intégrons dans la multi résistance aux antibiotiques des bactéries enteropathogènes isolées en Afrique Sub-saharienne. thèse de doctorat., Université de Limoges. France, 97 p.

**Gautier V., 2007** - Caractérisation et expression des gènes codant pour les  $\beta$ -lactamases chromosomiques au sein des entérobactéries de l'environnement, Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes., Université Pierre et Marie Curie, Paris. France, 25 p.

**Goldstein F.W., Pean Y et Gertner J., 1995** - Resistance to ceftriaxone and other betalactams in bacteria isolated in the community. The Vigil'Roc Study Group. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39(11): 2516-2519.

**Gootz T.D., 1990** - Discovery and development of new antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 3(1): 13-31.

**Gordon DM, Cowling A. 2003**- The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: Host and geographic effects. *Microbiology* 149:3575–3586.

**Grimont Fet Grimond P.A.D., 1986** - Ribosomal ribonucleic acid gene restriction patterns as potential taxonomic tools. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol.* 137B, 165-175.

**Gueye O., 2007** - Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif. Thèse de pharm. n° 36.

### H

**Hacker J. et Kaper J.B., 2000** - Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annual Review of Microbiology*, 54 : 641-679.

**Halfaoui Z., N.M. Menoueri et L.M. Bendali., 2017** - Serogrouping and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from broiler chicken with colibacillosis in center of Algeria. *Vet. World.* 10:830–835.

**Hardman J.G et Limbird L.E., 1998**- Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments, 9th edition. Nieuwegein, Pays-Bas, Mc Graw-Hill. 1069-1098.

**Hart C.A., 2006** - *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* and *Serratia spp* in Principles and practice of Clinical Bacteriology, 2nd Edn eds Gillespie S. H., Hawkey P. M., editors (Chichester John Wiley & Sons Ltd), 386p.

**Hassen B., M.S. Abbassi L. Ruiz-Ripa O.F. Mama, A. Hassen C. Torres, et S. Hammami., 2019** - High prevalence of mcr-1 encoding colistin resistance and first identification of blaCTX-M-55 in ESBL/CMY-2-producing *Escherichia coli* isolated

## Référence bibliographique

---

from chicken faeces and retailmeat in Tunisia International. *J. Food Microbiol.* 318: 108478.

**Havarstein L.S., 1998-** Bacterial gene transfer by natural genetic biotransformation. *Acta pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica.*106, 84-55.

**Hermann T., 2005 -** Drugs targeting the ribosome. *Currant opinion in microbiology.* 15,335-366.

**Holden V.I. et Bachman M.A., 2015 -** Diverging roles of bacterial siderophores during infection. *Metallomics.* 7: 986-995.

**Hornish R.E et S.F. Kotarski., 2002 -** Cephalosporins in veterinary medicine - ceftiofur use in food animals. *Curr. Top. Med. Chem.* 2:717–731.

**Howard C, Van Daal A, Kelly G, et al., 2002 -** Identification and minisequencing-based discrimination of SHV  $\beta$ -lactamases in nosocomial infection-associated *Klebsiella pneumoniae* in Brisbane, Australia. *Antimicrobiol Agents Chemother* 2002; 46: 659-64.

**Huovinen S, Huovinen P, Jacoby G.A., 1988 -**Detection of plasmid-mediated  $\beta$ -lactamases with DNA probes. *Antimicrob Agents Chemother* 1988 ; 32 : 175-9.

**Iabadene H., Y. Messai, H. Ammari N. Ramdani- Bouguessa, S. Lounes R. Bakour et G. Arlet., 2008 -** Dissemination of ESBL and Qnr determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria. *J. Antimicrob. Chemother.* 62:133–136.

### J

**Jacobson K.L., Cohen, S.H., Inciardi, J.F., King, J.H., Lippert W.E., Iglesias T et Van Couwenberghe C.J.,1995 -** The relationship between antecedent antibiotic use and resistance to extended-spectrum cephalosporins in group I beta-lactamase-producing organisms. *Clin Infect Dis.* 21(5): 1107-1113.

**Jacoby G.A, Munoz-Price L.S., 2005-** The New  $\beta$ -Lactamases. *New England Journal of Medicine* 352(4): 380–391

**Jalanko A, Kere J, Savilhati E, et al.,1992 -** Screening for defined cystic fibrosis mutations by solid-phase minisequencing. *Clin Chem* 1992 ; 38 : 39-43.

**Jehl F, Chomar M, Weber M, Gerard A., 2003 -** De l'antibiogramme à la prescription. *Éditions Biomérieux* 31-64.

**Johnson J.R., B. Johnston C. Clabots, M.A. Kuskowski et M. Castanheira., 2010 -** *Escherichia coli* Sequence Type ST131 as the Major Cause of Serious Multidrug-Resistant *E. coli* Infections in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 51:286–294.

**Joly B., et Reynaud A., 2003 -** Entérobactéries: systématiques et méthodes

## Référence bibliographique

---

d'analyses. Techniques et Documentation, Paris, p356.

**Joly B. et Reynaud A., 2007** - Entérobactéries: systématique et méthodes de diagnostic. *Edition Techniques et Documentation*, Paris, 182 p.

**Jouini, A., K. Ben Slama, N. Klibi, R. Ben Sallem, V. Estepa, L. Vinue, Y. Saenz, F. Ruiz-Larrea, A. Boudabous, et C. Torres., 2013** - Lineages and Virulence Gene Content among Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains of Food Origin in Tunisia. *J. Food Prot.* 76:323–327.

**Jouini A., L. Vinue', Ben Slama Y., Saenz N. Klibi, S. Hammami., A. Boudabous, et C. Torres., 2007** - Characterization of CTX-M and SHV extended-spectrum lactamases and associated resistance genes in *Escherichia coli* strains of food samples in Tunisia. *J. Antimicrob. Chemother.* 60:1137–1141.

### K

**Kaci Aet H. Kheffache., 2018** - Production and startup of broiler chicken in the Wilaya of Me'de'a (Algeria). [translated from French]. *Les Cahiers Du CREAD.* 118: 113–132.

**Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.T., 2004** - Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2 : 123-144

**Kassis-Chikhani N., Vimont S., Asselat K., Trivalle C., Minassian B., Sengelin, C., Gautier V., Mathieu D., Dussaix E et Arlet G., 2004** - CTX-M  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in longterm care facilities, France. *Emerg Infect Dis.* 10: 1697–1698.

**Khayar Y., 2011** - Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline-acide clavulanique l'Imipenème et l'Ertapénème. Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat ., University Mohammed V, 81p.

**Kim J, Lee HJ., 2000** - Rapid discriminatory detection of genes coding for SHV  $\beta$ -lactamase by ligase chain reaction. *Antimicrobiol Agents Chemother* 2000; 44: 1860-4.

**Kiratisin P., A. Apisarnthanarak P. Saifon C. Laesripa R. Kitphati et L.M. Mundy., 2007** - The emergence of a novel ceftazidime-resistant CTX-M extended spectrum  $\beta$ -lactamase, CTX-M-55, in both community-onset and hospital-acquired infections in Thailand. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 58: 349–355.

**Knothe H., P. Shah, V. Krcmery M., Antalet Mitsuhashi S., 1983** - Transferable resistance to cefotaxime, ceftaxime, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *J Infect.* 11:315-317.

## Référence bibliographique

---

**Kumar Aet Schweizer H.P., 2005** - Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Advance Drug Delivery Review*, **57** : 1486-1513.

### L

**Lagha N., 2015** - Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de doctorat. Tlemcen., Universté Abou Bekr Bekaid, 48p.

**Lagha N., D.J. Abdelouahid H. Hassaine F. Robin et R. Bonnet., 2014-** First characterization of CTX-M-15 and DHA-1 blactamases among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Laghouat Hospital, Algeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 8:1221–1227.

**Larouche G.,2001** - Les quinolones : des années soixante à aujourd'hui. Pharmacothérapie théorique. *Pharmacothérapie théorique. Pharmactuel.*34(2) :40.

**Laupland K.B., Church D.L., Vidakovich J., Mucenski, M et Pitout J.,2008** - Community-onset extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli*: importance of international travel. *J Infect.* 5: 20-26.

**Lautenbach E., Patel J.B., Bilker W.B., Edelstein P.H et Fishman N.O., 2001** - Extendedspectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect.* 32: 1162–1171.

**Le Minor L., 1989** - *Salmonella*. In Bactériologie médicale (L. Le Minor & M. Véron, édit.).2ed. Flammarion, Paris, pp. 411-425.

**Le Noc P., 1999** - Monobactames in Antibiotiques agents antibactériens et antifongiques. *Ed Ellipses.* 374-391.

**Leclercq M., 2006** - *Enterobacter sakazakii*. Agence française de sécurité sanitaire des aliments AFSSA. p 1-6.

**Lee K., Kim CK., Yong D., Jeong SH., Yum JH., Seo YH., Docquier JD et Chong Y., 2010** -Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *Journal of Microbiological Methods.* **83**: 149–152.

**Lee W., H.S. Chung H. Lee J.H. Yum D. Yong S.H., Jeong K., Lee et Y. Chong., 2013** - CTX-M-55-type extended-spectrum b-lactamase-producing *Shigella sonnei* isolated from a Korean patient who had travelled to China. *Ann. Lab. Med.* 33:141–144.

**Leverstein-van Hall M.A., C.M. Dierikx J., Cohen Stuart G.M., Voets M.P.,**

## Référence bibliographique

---

**Van den Munckhof A., Van Essen- Zandbergen T., Platteel A.C., Fluit N., Van de Sande- Bruinsma J., Scharinga M.J., Bonten D.J. Mevius et National ESBL surveillance group., 2011** - Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clin. Microbiol. Infect.* 17:873–880.

**Levy S.B ., 1998** -The challenge of antibiotic resistance. *Scientific American*, 278, 32-39.

**Leyral G et Vierling E., 2001** - Microbiologie et toxicologie des aliments. 3<sup>ème</sup> édition. Collection biosciences et techniques .Paris, pp. 77-134.

**Li X-Z et Nikaido, H., 2004** - Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drug ;* 64:159-204.

**Limbert M., Isert D., Klesel N., Markus A., Seeger K et Seibert G., 1991-** Antibacterial activities in vitro and in vivo and pharmacokinetics of Cefquinome (HR111V), a new broad spectrum cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35(1) : 14-19.

**Livermore D.M., Canton R., Gniadkowski M., Nordmann P., Rossolini G.M., Arlet G., Poirel L., Woodford N., 2007** - CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 59(2): 165-174.

**Livermore D.M., 2003** - Bacterial Resistance : Origins, Epidemiology and Impact. An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 36 : 11-23.

**Lozniewski A et Rabaud C., 2010** - résistance bactérienne aux antibiotiques. CCLIN sud est. Nancy, 2010.

### M

**M'zali FH, Gascoyne-Binzi DM, Heritage J et al., 1996** -Detection of mutations conferring extended-spectrum activity on SHV  $\beta$ -lactamases using polymerase chain reaction single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP). *J Antimicrob Chemother* 1996; 37: 797-802.

**M'zali FH., Heritage J., Gascoyne-Binzi et al., 1998** -PCR single strand conformational polymorphism can be used to detect the gene encoding SHV-7 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and to identify different SHV genes within the same strain. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: 123-5.

**Maamar E., Hammami C.A., Alonso N., Dakhli M.S., Abbassi S., Ferjani Z., Hamzaoui M., Saidani C., Torres et I. Boutiba-Ben Boubaker., 2016** - High prevalence of extended-spectrum and plasmidic AmpC beta-lactamase producing

## Référence bibliographique

---

- Escherichia coli from poultry in Tunisia. *Int. J. Food Microbiol.* 231:69–75.
- Mabilat C et Courvalin P., 1990** - Development of “oligotyping” for characterization and molecular epidemiology of TEM  $\beta$ -lactamases in members of the family of Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 2210-6.
- Madigan M et Martinko J., 2007**- Biologie des micro-organismes. 11ème Edition. PEARSON Education, France, p.354-355.
- Mandell G.L et al., 2009** - Principales and practice of infectious diseases. 6eme ed. Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA.edition en ligne.http: // www.ppidoonline.com.
- Matagne A., Lamotte-Brasseur J et Frere J.M., 1998** - Catalytic properties of class A betalactamases: efficiency and diversity. *Biochem J.* 330(2): 581-598.
- Meguenni N., L. Le Devendec E., Jouy M., Le Corvec S., Bounar-Kechih, R. Bakour et I. Kempf., 2015** - First description of an extended-spectrum cephalosporin- and fluoroquinolone- resistant avian pathogenic Escherichia coli clone in Algeria. *Avian Dis.* 59:20–23.
- Mesbah Zekar F., S.A. Granier A., Touati et Y.Millemann., 2019** - Occurrence of Third-Generation Cephalosporins- Resistant Klebsiella pneumoniae in Fresh Fruits and Vegetables Purchased at Markets in Algeria. *Microb. Drug. Resist.* 26:353–359.
- Messai, C.R., K. Ait-Oudhia, D. Khelef, T.M. Hamdi N.S. Chenouf et M.R. Messai., 2015** - Serogroups and antibioticsusceptibility pattern of avian pathogenic Escherichia colistrains responsible for colibacillosis in broiler breedingfarms in the east of Algeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 9:2358–2363.
- Meyer A., Deñania J., Bernard A., 2004** - Résistance aux agents antimicrobiens. In Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2ème ed. Doin. Biosciences et techniques collection dirigée par Fagarella J et Calos A.
- Michael et John M.,2007**- Brock : Biologie de Microbiologie.11ed .Paris.1047 p.*Microbiol Rev.* 14: 933-51.
- Mohsin M., S. Raza K., Schaufler N., Roschanski F., Sarwar T., Semmler P. Schierack, et S. Guenther., 2017** - High Prevalence of CTX-M-15-Type ESBL-ProducingE. coli from Migratory Avian Species in Pakistan. *Front. Microbiol.* 8:2476.
- MUYLAERT A et MAINIL J.g., 2012** - Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire., Université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège. Manuscrit soumis le 09/07/2012 *Ann. Méd. Vét.*, 2012, 156, pp 109- 123.

## Référence bibliographique

---

### N

**Naseer U et Sundsfjord A., 2011-** The CTX-M Conundrum: Dissemination of Plasmids and *Escherichia coli* Clones. *Microbial Drug Resistance* **17**(1): 83–97.

**National committee for clinical and laboratory standards institute., 2005-** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.15th informational supplement update.M100-S15). N.C.C.L.S.

**Ndiaye A., 2005** - Les entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargie. Université Cheikh Anta diop de Dakar, 65p.

**Niang O., 2003** - Validation d'une micro méthode d'identification des bacilles a Gram négatif non fermentaires Thèse de Pharmacie., Université Cheikh Anta DIOP, Dakar. Sénégal, 60 p.

**Nikaido H., 2000** - Crossing the envelope: how cephalosporins reach their targets. *Clinical Microbiology and Infection*, 6: 22-26.

**Nilius, A. Met Ma, Z., 2002** - Ketolides: the future of microlides? *Current Opinion in pharmacology*. 2 : 1-8.

**Nishino K et Yamaguchi A., 2001** - Analysis of a complete library of putative drug transporter genes in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*; 183: 5803-5812.

**Nordmann P, Dortet L et Poirel L., 2012** - Rapid detection of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*. 50: 3016–3022.

**Nuesch-Inderbilen MT et Hachler Hkh., 1996** -Detection of genes coding for extended spectrum SHV beta-lactamases in clinical isolates by a molecular genetics method, and comparison with the E-test. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 398-402.

### O

**Ouelette M., Paul GC., Philippon AM et al., 1988** - Oligonucleotides probes (TEM-1, OXA- 1) versus isoelectrofocusing in  $\beta$ -lactamases characterization of 114 resistant strains. *Antimicrob Agents Chemotherp*32: 397-9.

### P

**Pallasch T.J., 2003** - Antibiotic resistance. *Dental Clinics of North America*.47, 623-639.

**Paolozzi L et Liebart J.C., 2015** - Microbiologie : biologie des procaryotes et de leurs virus, Editions Dunod, Paris, 512 p.

**Pascale Lesseur ., 2014** - Modes d'action, mécanismes de la résistance , pharmacien,

## Référence bibliographique

---

Paris07 AVRIL 2014

**Paul S., 2005** - Bactériologie.6ed.Dunod.Paris. 515 p.

**Pena C., Pujol M., Ricart A., Ardanuy C., Ayats J., Linares J., Garrigosa F., Ariza J et Gudiol F.,1997** - Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. *J Hosp Infect.* 35: 9–16.

**Perriere, G., 1992** - Application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation certains aspects de l'expression des gènes chez *E. coli* UCBL. Thèse Université de Lyon I. France. 14, 77.

**Philippon A et Arlet G., 2006** - $\beta$ -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! *Ann Biol Clin.* 64(1): 37-51.

**Pilet C., Bourdon J. L., Toma B., Marchal N., Balbastre C.,1979** - Les entérobactéries Bactériologie médicale et vétérinaire : Systématique bactérienne. *Doins Paris 2é édition: 109-187.*

**Pina P et al., 2000** - Sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques en Unités de soins intensifs. *J Path Biol.* 48: 485-489.

**Pitout JD., 2012** -Extra intestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther* 10:1165–76.

**Ploy M.C., Gassama A., Chainier D et Denis F.,2005** - Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques. Integrons: an antibiotic resistance gene capture.

**Podschun Ret Ullmann U., 1998** - *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens : epidemiology,taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Review*, 11 : 589-603.

**Podschun R et Ullmann U.,1998** - *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev.* 11: 589-603.

**POOLE K., 2001** - Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2001, p 4, 500-508.

**Poole K., 2004** - "Resistance to beta-lactam antibiotics." *Cell Mol Life Sci.* 61(17): 2200-2223.

**Poulsen LK, Lan F, Kristensen CS, Hobolth P. 1994** - Spatial distribution of *Escherichia coli* in the mouse large intestine inferred from rRNA in spatial

## Référence bibliographique

---

distribution of *Escherichia coli* in the mouse large intestine inferred from rRNA in situ hybridization. *Infect Immun* 62:5191–5194.

### Q

**Queenan AM et Bush K., 2007.** Carbapenemases: the versatile  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Rev* 20:440–58.

### R

**Randegger CC et Hachler H., 2001** - Real-time PCR and melting curve analysis for reliable and rapid detection of SHV extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Antimicrobiol Agents Chemother* 2001; 45: 1730-6.

**Rebbah N., Y. Messai P. Chaître., M. Haenni J.Y., Madec et R Bakour., 2018** - Diversity of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -Lactamases in *Escherichia coli* isolates from retail raw ground beef: first report of CTXM- 24 and CTX-M-32 in Algeria. *Microb. Drug Resist.* 24:896–908.

**Restieri C., Garriss G., Locas M.C. e Dozois C.M., 2007** - "Autotransporter-encoding sequences are phylogenetically distributed among *Escherichia coli* clinical isolates and reference strains. *Applied and Environmental Microbiology.* **73** : 1553-1562

**Rian˜o I., M.A. Moreno T., Teshager Y., Sa´enz, L., Domı ´nguez et C. Torres., 2006** - Detection and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Salmonella* enteric strains of healthy food animals in Spain. *J. Antimicrob. Chemother.* 58:844–847.

**Riley L.W., 2014** - Pandemic lineages of extra intestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Infect.* 20: 380–390.

**Robin F., Gibold L et Bonnet R., 2012** - Résistances naturelles et acquises aux  $\beta$ -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne. *Revue Francophone des laboratoires.* 445 : 47-58.

**Rodriguez-Villalobos H et Struelens M.-J., 2006** -Résistance bactérienne par  $\beta$ lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation* **15**: 205-213. te. *Clinical Microbiology Reviews* **18**(4): 657–686.

**Ros A.,1999** - La résistance bactérienne ou le naufrage des antibiotiques. VIIIème assemblée annuelle des CLIN du sud-est. Lyon. 28 octobre.

### S

**Sahly H., Ancken H., Benedi V.J., Forestier C., Fusing V., Hansen D.S, Ofek, I et Podshun R ., 2004** - Impairment of Respiratory Burst in polymorphonuclear

## Référence bibliographique

---

Leukocytes by Extended-Spectrum Beta-lactamase-Producing Strains of *Klebsiella pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 23: 20-26.

**Saraiva M.M.S., A.L.B. Moreira Filho, O.C. Freitas Neto, N.M.V. Silva, P.E.N. Givisiez, W.A. Gebreyes, et J.B.C. Oliviera., 2018** - Off-label use of ceftiofur in one-day chickstriggers a short-term increase of ESBL-producing *E. coli* in the gut. *PLoS One*. 13: e0203158.

**Sebghati T.A., Korhonen T.K., Hornick D.B et Clegg S., 1998** - Characterization of the type 3 fimbrial adhesins of *Klebsiella* strains. *Infection and Immunity*, **66** : 2887-2894.

**Sekhsokh, Y., Arsalane, L., El Ouenass, M., Doublali, T., Bajjou, T. et Lahlou Amine, I., 2007** - Bactériémie à *Serratia rubidaea*. *Medicine et maladies infectieuses*; 37 : 287-289.

**Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi S.M.D, Kamal M.A., 2015** - Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* **22**(1): 90–101.

**Shin S.W., M. Jung H.G., Won K.M., Belaynehe I.J., Yoon et H.S. Yoo., 2017** - Characteristics of Transmissible CTX-M- and CMY-Type b-Lactamase-producing *Escherichia coli* isolates collected from Pig and Chicken Farms in South Korea. *J. Microbiol. Biotechnol*. 27:1716–1723.

**Sirot J., 1989** - Prospective survey of colonization and infection caused by expanded-spectrum- beta-lactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae in an intensive care unit. *J Clin Microbiol*. 27(12): 2887-2890.

**Smith M.A., Weingarten R.A., Russo L.M., Ventura C.L et O'Brien A. D., 2015** - "Antibodies against hemolysin and cytotoxic necrotizing factor type 1 (CNF1) reduce bladder inflammation in a mouse model of urinary tract infection with toxigenic uropathogenic *Escherichia coli*." *Infection and Immunity*. 83: 1661-1673.

**Stone P.W., Gupta A., Loughrey R.N., Della-Latta P.H., Cimiotti, R.N., Larson E., Rubenstein, D et Saiman L ., 2003** - Attributable Coast And Length Of Stay Of An Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Outbreak In A Neonatal Intensive Care Unit. 24: 601-606.

**Stratton C.W., 2000** - Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Leb Med J*; 48:186-198.

**Struve C., Bojer M et Krogfelt K.A., 2008** - Characterization of *Klebsiella pneumoniae* type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and

## Référence bibliographique

---

infection and impact on virulence. *Infection and Immunity*, **76** : 4055-4065.

### T

**Taha M. K., Zarantonelli M. L., Ruckly C., Giorgini D et Alonso J. M., 2006** – Rifampinresistance *Neisseria meningitidis*. *Emerging Infectious Disease*, **12** : 859-860.

**Tham TN., Mabilat C., Courvalin P et al., 1990** -Biotinylated oligonucleotides probes for the detection and characterization of TEM-type extendedspectrum  $\beta$ -lactamases in *Enterobacteriaceae*. *FEMS Microbiol Lett* 1990; 69: 109-16.

**The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0., 2020** - Available at [www .eucast.org](http://www.eucast.org).

**Touati A., S. Benallaoua D., Forte J., Madoux L., Brasme et C. De Champs., 2006** - First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Bejaia, Algeria. *Int. J. Antimicrob Agents*. 27:397–402

### V

**Van Bambeke F et Tulkens P., 2008** - Pharmacologie et pharmacotherapie anti-infectieuse, Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire., Université catholique de Louvain, 212p.

**Van den Bogaard A.E et E.E. Stobberingh., 2000** - Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animal and humans. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 14:327–335.

**Vardakas KZ., Tansarli GS., Rafailidis PI., Falagas ME., 2012** - Carbapenems *versus* alternative antibiotics for the treatment of bacteraemia due to *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum  $\beta$ -lactamases: A systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* **67**:2793–2803.

**Vasseur M ., 2014** - Détermination de nouvelles modalités d'utilisation des bêta-lactamines en médecine vétérinaire par des approches PK/PD en vue de la protection de la santé publique : implication de la taille de la charge bactérienne pathogène. Thèse de doctorat., Université de Toulouse, 220p.

**Vodovar D., Marcadé G., Raskine L., Malissin I et Mégarbane B., 2013** - Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *La Revue de Médecine Interne* 34(11): 687–693.

## Référence bibliographique

---

### W

**Walsh C., 2000** - Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*; 406: 775-81.

**Walsh C., 2003** - Antibiotics : actions, origines, résistance. Washington, DC: *ASM Press*. 345 pp.

**Wiener J., Quinn J.P., Bradford P.A., Goering R.V., Nathan C., Bush K et Weinstein R.A., 1999** - Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. *JAMA*. 281(6): 517–523.

**Wilke M.S., Lovering A.L et Strynadka N.C., 2005** - Beta-lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Curr Opin Microbiol*. 8: 525-533.

**Wolfgang, M et al., 1999** – The comp locus of *Neisseria gonorrhoeae* encodes a type IV prepilin that is dispensable for pilus biogenesis but essential for natural transformation. *Molecular Microbiology*. 31, 1345-1357.

### X

**Xu M., Zhou Y.N., Goldstein B.P et Jin D.J., 2005** -Cross-Resistance of *Escherichia coli* RNA Polymerases Conferring Rifampin Resistance to Different Antibiotics. *Journal of Bacteriology*, **187** : 2783-2792.

### Y

**Yahiaoui M., F. Robin R. Bakour M., Hamidi R., Bonnet, et Y Messai., 2015** - Antibiotic Resistance, Virulence, and Genetic Background of Community-Acquired Uropathogenic *Escherichia coli* from Algeria. *Microbial. Drug Resist*. 21:516–526.

**Yaici L., M. Haenni V. Me'tayer E., Saras F. Mesbah Zekar M. Ayad, A. Touati, et J.-Y. Madec., 2017** - Spread of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the community through ready-to-eat sandwiches in Algeria. *Int. J. Food Microbiol*. 245:66–72.

**Yamashita S.K et al., 2000** -Microbiological surveillance and parental antibiotic use in a critical care unit. *Can J Infect Dis*. 11, 107-111.

### Z

**Z. Zeng, S. Chen, D. He, X. Chen, C. Wu, Y. Wang, T. Yang, P. Wu, Y. Liu, et J.H. Liu. 2014.**Increasing prevalence of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* in food animals and the diversity of CTX-M genotypes during 2003–2012. *Vet. Microbiol*. 172:534–541.

**Zeba B., 2005** - Overview of  $\beta$ -lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African journal of biotechnology*.4 (13):1559-1562.

## Référence bibliographique

---

**Zenati F., A. Barguigua, K., Nayme F., Benbelaid A. Khadir C., Bellahsene M. Bendahou H., Hafida et M. Timinouni., 2019** - Characterization of uropathogenic ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in western Algeria. *J. Infect. Dev. Ctries.* 13:291–302.

**Annexe**

## Extended Spectrum $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from Broiler Liver in the Center of Algeria, with Detection of CTX-M-55 and B2/ST131-CTX-M-15 in *Escherichia coli*

Nadia Safia Chenouf,<sup>1-4</sup> Isabel Carvalho,<sup>4,5</sup> Chafik Redha Messaï,<sup>6</sup> Laura Ruiz-Ripa,<sup>4</sup>  
Olouwafemi Mistourath Mama,<sup>4</sup> Yacine Titouche,<sup>1</sup> Abdelghani Zitouni,<sup>3</sup>  
Ahcène Hakem,<sup>1,7</sup> and Carmen Torres<sup>4</sup>

This study aimed to determine the prevalence and diversity of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing and multidrug-resistant (MDR) *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from 136 broiler livers randomly purchased in 136 retail markets in Djelfa (Algeria). Isolation was performed on Hektoen agar and bacterial identification was carried out by API20E system and Maldi-TOF-MS (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry). Antimicrobial susceptibility was tested by the disk diffusion and agar dilution methods. Detection of ESBLs and other resistance and integron genes, phylogenetic grouping, and molecular typing was performed by PCR and sequencing. Seventy-eight isolates (one per positive sample) were recovered: 73 *E. coli* and 5 *K. pneumoniae*. Among *E. coli*, 86.3% of isolates were MDR. ESBL activity was revealed in eight *E. coli* and five *K. pneumoniae* isolates (rates of 5.9% and 3.7% in analyzed samples, respectively). ESBL genes detected among *E. coli* were as follows (number of isolates): *bla*<sub>CTX-M-15</sub> (3), *bla*<sub>CTX-M-1</sub> (3), *bla*<sub>CTX-M-55</sub> (1), and *bla*<sub>SHV-12</sub> (1); all ESBL-producing *K. pneumoniae* isolates carried the *bla*<sub>CTX-M-15</sub> gene. ESBL-producing *E. coli* isolates were assigned to lineages (phylogroup/sequence type and number of isolates in parenthesis): A/ST48 (1), B1/ST6448 (1), B1/ST5087 (3), B1/ST23 (1), and B2/ST131 (two *bla*<sub>CTX-M-15</sub> *E. coli* isolates). *K. pneumoniae* isolates were ascribed to sequence types ST2010 and ST3483. Regarding the 65 non-ESBL *E. coli* isolates, the most observed resistance genes were as follows: *tet(A)* (75%), *bla*<sub>TEM</sub> (57.1%), and *sul2* (43.5%). Class I integrons were revealed in seven non-ESBL *E. coli* isolates (10.7%) and two gene-cassette arrays were identified: *dfrA1* and *aadA1+dfrA1*. Our study provides evidence that broiler-derived food from Center of Algeria constitutes a source of ESBL and/or MDR-producing Enterobacteriaceae, with detection of relevant ESBL genes and epidemic clones.

**Keywords:** *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ESBL, *bla*<sub>CTX-M</sub>, B2/ST131, poultry, Algeria

### Introduction

**D**URING THE LAST DECADES, the emergence of antimicrobial-resistant bacteria has been enormously announced worldwide. In relation to an extensive use of  $\beta$ -lactam antibiotics in both clinical and nonclinical settings, a great diversity of  $\beta$ -lactamase types have disseminated.<sup>1</sup>

In this context, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing bacteria constitute a mechanism of resistance of great clinical relevance that is spreading not only in humans but also among domestic animals.<sup>2</sup> ESBL-producing Enterobacteriaceae have been recognized as highly prevalent in food-producing animals and derived food, in the Mediterranean Basin countries.<sup>3-7</sup> In the African continent, despite the

<sup>1</sup>Laboratoire d'Exploration et de Valorisation des Ecosystèmes Steppiques, Université de Djelfa, Djelfa, Algeria.

<sup>2</sup>Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Djelfa, Djelfa, Algeria.

<sup>3</sup>Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM), Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algeria.

<sup>4</sup>Area Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de La Rioja, Logroño, Spain.

<sup>5</sup>Department of Veterinary Sciences, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.

<sup>6</sup>Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Alger, Algeria.

<sup>7</sup>Center of Research in Agropastoralism, Djelfa, Algeria.

different surveillances published, mainly in northern countries, regarding antimicrobial resistance among food-producing animals, information is still scarce.<sup>2</sup> In some previous studies, poultry and derivative products have been shown with the highest contamination level of ESBL-producing bacteria compared with other food sources.<sup>8,9</sup>

Regarding ESBL-encoding genes, the *bla*<sub>CTX-M</sub> is supposed to be the most often disseminated in poultry sector in North Africa.<sup>3,10</sup> The *bla*<sub>SHV</sub> and the *bla*<sub>TEM</sub> ESBL-encoding genes have also been reported, with remarkable variation between countries.<sup>5,11,12</sup> On the other hand, it has been mentioned that ESBL gene transmission is supported by epidemic plasmids (such as IncII, IncK, and B/O plasmids, among others), some of which are similar in isolates from human and animal environments.<sup>6,13</sup>

Clinical multidrug-resistant (MDR) *Escherichia coli* isolates belonging to pathogenic clones have also been found to carry relevant ESBL genes.<sup>1</sup> Accordingly, not only antibiotic resistance genes encountered in clinical isolates are pertinent, but rather, all commensal strains from humans and animals, and their mobile genetic elements, constitute a probable reservoir from which, pathogenic bacteria can acquire resistance by horizontal gene transfer.<sup>14,15</sup>

To our knowledge, a very few number of studies have been performed in Algeria on the occurrence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in food of animal origin commercialized in retails. In the Algerian society, broiler liver has become largely consumed by adult people and widely used in preparation of sandwiches in fast foods and restaurants. Once undercooked, this liver can be the origin of a risk of food poisoning. Therefore, this study was launched to investigate the prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae (*E. coli* and *Klebsiella pneumoniae*) recovered from broiler liver in chicken markets of Djelfa area and analyze their phenotypic and genotypic characteristics.

## Materials and Methods

### Sampling and bacterial isolation

A total of 136 samples of broiler livers destined for human consumption, were randomly purchased during 2016–2018 from retail markets situated in six districts of Djelfa area, collecting one sample per market. The number of markets sampled from each district was as follows: 85 from Djelfa, 14 from Ain Ouessara (100 km north of Djelfa), 12 from Hassi Bahbah (50 km north of Djelfa), 11 from Messaïd (75 km south of Djelfa), 8 from Znina (110 km southwest of Djelfa), and 6 from Ain Maâbad (20 km north of Djelfa). Samples were accurately transported to the laboratory in sterile jars under cold storage and were processed for analysis on the same day.

At arrival, the surface of each liver sample was flamed using a Bunsen burner to eliminate any superficial contamination. Then, livers were cut aseptically into small pieces, and two to three of them were enriched on BHI broth (Pasteur Institute of Algeria), and incubated aerobically at 37°C for 24 h; after that, the enriched culture was inoculated on Hektoen agar plates (Pasteur Institute of Algeria) being incubated at 37°C for 24 h. Presumptive *E. coli* and *K. pneumoniae* colonies (lactose positive and H<sub>2</sub>S negative) were purified and identified, using Gram staining, oxidase test, TSI media (Pasteur Institute of Algeria), and API 20E

system (BioMérieux, France). Furthermore, *E. coli* and *K. pneumoniae* identification was double checked by the Maldi-TOF-MS (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry) technique.

### Antimicrobial susceptibility and ESBL phenotypic tests

Antimicrobial susceptibility was tested by disk-diffusion method on Mueller–Hinton medium (MH) (Pasteur Institute of Algeria) as previously recommended by CLSI (2018).<sup>16</sup> The antibiotics tested were as follows: β-lactams (ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, cefotaxime, ceftazidime, and imipenem), quinolones (naldixic acid and enrofloxacin), aminoglycosides (neomycin and gentamicin), trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol, and tetracycline. In parallel, synergy and complementary double-disk tests, using third-generation cephalosporins (cefotaxime and ceftazidime) and a β-lactamase inhibitor (amoxicillin-clavulanic acid), were applied for the detection of ESBL activity. *E. coli* ATCC 25922 and *K. pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL-producing strain) were adopted as control strains. All the strains were conserved for subsequent genotypic characterization. The minimum inhibitory concentration (MIC) for colistin was tested in ESBL-positive isolates by the agar dilution method, and the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) breakpoints were used in this study.<sup>17</sup> Isolates that showed resistance to at least three families of antimicrobial agents were classified as MDR.

### Characterization of β-lactamase genes

Bacterial DNA extraction was carried out by boiling three to five colonies in 1 mL of sterile Milli-Q water for 8 min. The isolates that have shown an ESBL-producing activity were analyzed by simplex PCR using universal (*bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, and *bla*<sub>SHV</sub>) and specific primers (*bla*<sub>CTX-M-1</sub> and *bla*<sub>CTX-M-9</sub> groups, and *bla*<sub>OXA-1</sub>).<sup>18</sup> Positive amplicons were sequenced to identify the corresponding subtypes of β-lactamases.

### Characterization of other resistance encoding genes and integrons

Based on the obtained antimicrobial resistance phenotypes, isolates were checked for genes encoding resistance to tetracycline (*tet*(A) and *tet*(B)), sulfonamides (*sul1*, *sul2*, and *sul3*), chloramphenicol (*cmIA* and *catA*), colistin (*mcr-1*), or gentamicin (*aac*(3)-I and *aac*(3)-II). Ultimately, the presence of integrons was carried out by amplification of the class 1 integrase (*intI1*), and the amplified variable regions were characterized by sequencing.<sup>19</sup>

### Phylogenetic grouping and molecular typing

The phylogenetic group (A, B1, B2, or D) of ESBL-producing *E. coli* isolates was determined by a specific triplex PCR (*chuA*, *yjaA*, and *TspE4.C2*). Multilocus sequence typing (MLST) of seven housekeeping loci was performed for ESBL-producing *E. coli* isolates (*adh*, *fumC*, *gyrB*, *icd*, *mdh*, *purA*, and *recA*) and *K. pneumoniae* isolates (*rpoB*, *gapA*, *mdh*, *pgi*, *phoE*, *infB*, and *tonB*), to determine the sequence type (ST) and clonal complex (CC), as previously recommended.

*Plasmid characterization and conjugal transfer*

Transferability of the ESBL-encoding genes was checked through conjugation experiments. A plasmid-free, rifampicin-resistant, and lactose-negative *E. coli* CSH26 strain, showing sensitivity to all antimicrobial agents under study, was used as a recipient bacterium. MacConkey agar plates (Difco, Le Pont de Claix, France) supplemented with rifampicin (50 µg/mL) and cefotaxime (4 µg/mL) were used for transconjugant selection. Moreover, donors and transconjugants were subjected to PCR-based replicon-typing method to analyze the presence of IncI1, IncN, IncFIA, IncFIB, IncFIC, IncK, and IncL/M replicons.<sup>21</sup>

**Results***Antimicrobial resistance phenotype in E. coli/K. pneumoniae isolates*

Among the 136 liver samples tested, 78 contained *E. coli* or *K. pneumoniae* (57.5%), and 73 *E. coli* and 5 *K. pneumoniae* isolates were recovered (1 isolate per positive sample).

High resistance rates were detected in *E. coli* isolates against tetracycline (98.6%), nalidixic acid (86.3%), trimethoprim/sulfamethoxazole (72.6%), ampicillin (71.2%), enrofloxacin (60.2%), and amoxicillin/clavulanic acid (57.5%). Resistance levels for other antimicrobial agents in *E. coli* isolates were as follows: cefotaxime (10.9%), ceftazidime (2.7%), imipenem (0%), neomycin (26%), gentamicin (6.8%), and chloramphenicol (16.4%). A multidrug resistance phenotype was detected in 86.3% of *E. coli* isolates and in all of the *K. pneumoniae* isolates (Table 1).

*Prevalence and genetic characteristics of ESBL-producing E. coli and K. pneumoniae isolates*

Eight *E. coli* and the five *K. pneumoniae* isolates were ESBL producers (rates of 5.9% and 3.7% in analyzed samples, respectively). All five ESBL-producing *K. pneumoniae* carried the *bla*<sub>CTX-M-15</sub> gene. Genes-encoding ESBL detected in eight *E. coli* were as follows: *bla*<sub>CTX-M-1</sub> (three isolates), *bla*<sub>CTX-M-15</sub> (three isolates), *bla*<sub>CTX-M-55</sub> (one isolate), and *bla*<sub>SHV-12</sub> (one isolate). Other β-lactamase genes (*bla*<sub>SHV-1</sub> and/or *bla*<sub>TEM-1</sub>) were present in six ESBL-positive isolates, in association either with the *bla*<sub>CTX-M-15</sub> gene (one *E. coli* and four *K. pneumoniae* isolates) or the *bla*<sub>SHV-12</sub> gene (one *E. coli* isolate) (Table 1).

ESBL-producing *E. coli* isolates were ascribed to the following lineages [phylogroup/sequence type/ESBL type (number of isolates)]: A/ST48/SHV-12 (1), B1/ST6448/CTX-M-55 (1), B1/ST5087/CTX-M-1 (3), B1/ST23/CTX-M-15 (1), and B2/ST131/CTX-M-15 (2). In addition, *K. pneumoniae* isolates were ascribed to sequence types ST2010 (three isolates) and ST3483 (two isolates) (Table 1).

Regarding other resistance genes, most of ESBL-producing isolates (seven *E. coli* and all five *K. pneumoniae*) harbored the *tet(A)* gene, and the remaining *E. coli* isolate contained the *tet(B)* gene. Resistance to sulfonamides was caused by the *sul2* gene in *K. pneumoniae* isolates, whereas *E. coli* isolates carried the *sul1*, *sul2*, or *sul3* genes. In one B1/ST5087 *E. coli* isolate, resistance to sulfonamides occurred by both *sul1* and *sul2* genes. All ESBL-producing isolates showed a colistin MIC of ≤2 µg/mL (in the susceptibility category) and were negative for *mcr-1* gene (Table 1).

Moreover, 9 of the 13 ESBL-producing Enterobacteriaceae contained class I integrons, and the *aadA1* gene cassette was found in the variable region of 3 *E. coli* isolates (Table 1).

The four ESBL variants were successfully transferred in seven of the nine ESBL producer strains tested by conjugation. Transconjugants carrying the *bla*<sub>CTX-M</sub> genes also acquired the IncK and IncI1 plasmids in three *E. coli* and one *K. pneumoniae* isolates, respectively. However, transfer of *bla*<sub>SHV-12</sub> gene occurred in association with the acquisition of both IncFIB and IncI1 plasmids, and of tetracycline and sulfonamide resistance. In the remaining two transconjugants, all PCRs with tested replicons were negative (Table 1).

*Genotype of antimicrobial resistance in non-ESBL-producing E. coli isolates*

Focusing on the 65 non-ESBL-producing *E. coli* isolates from liver samples, a variety of resistance genes was detected (Table 2). The most frequent genes associated with tetracycline resistance were *tet(A)* (75%) and *tet(B)* (10.9%). Resistance to ampicillin was mainly mediated by the *bla*<sub>TEM</sub> gene (57.1%), whereas the *bla*<sub>SHV</sub> and *bla*<sub>OXA</sub> genes were absent. The *sul2*, *sul1*, and *sul3* genes were detected in 43.5%, 21.7%, and 8.7% of sulfonamide-resistant isolates, respectively. The *cmlA* gene, which encodes a putative chloramphenicol efflux pump, was revealed in seven isolates, whereas the *catA* gene, which encodes a chloramphenicol acetyltransferase, was spotted in the remaining three chloramphenicol-resistant isolates. Interestingly, resistance to gentamicin was associated with the presence of the *aac-(3)-II* gene in all cases. Class I integrons were revealed in seven isolates (10.7%) and two gene cassettes were identified in the variable region of four of them: *dfrA1* (three isolates) and *dfrA1+aadA1* (one isolate).

**Discussion**

More than half of liver samples destined for human consumption tested in this study were contaminated with *E. coli* or *K. pneumoniae* isolates and most of them showed a multidrug resistance phenotype. Moreover, ~10% of the liver samples contained ESBL-producing *E. coli* or *K. pneumoniae* isolates, with diversity of bacterial genetic lineages and of ESBL genes. This situation is worrying, given that, these bacteria could be transmitted to humans through the food chain.

Enterobacteriaceae, notably *E. coli* strains, are known to be primary indicators of fecal contamination in food products. The heavy contamination recorded in this study could be mostly explained by the lack of hygiene that could occur during one of the stages of liver production: rearing, processing, transport, or distribution. Of all these stages, slaughter and evisceration remain the most critical points in contaminating livers. In our case, no information is available about the rearing system in the farms. Then, livers were either processed in the slaughterhouses of Djelfa region (sellers receive eviscerated carcasses) or in the markets (sellers receive partially eviscerated carcasses). Concerning distribution, we have noticed that the transport trucks were deprived of any refrigeration system in several cases (data not shown).

TABLE 1. ANTIMICROBIAL RESISTANCE PHENOTYPE, GENETIC CHARACTERISTICS AND CONJUGAL TRANSFER IN EXTENDED-SPECTRUM- $\beta$ -LACTAMASE -PRODUCING *ESCHERICHIA COLI* AND *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ISOLATES OF FOOD LIVER SAMPLES

ESBL strains	Isolation zone	Isolate code	Phylogenetic group/MLST	Antimicrobial resistance phenotype	MIC of colistin ( $\mu\text{g/mL}$ )	ESBL and other $\beta$ -lactamases	Other resistance genes and integrons	Conjugal transfer/plasmid type(s)	Transconjugants phenotype (genotype)/plasmids	
<i>Escherichia coli</i>	Djeïfa	X799	B1/ST5087	AMP-AMC-CTX-NAL-ENR-NEO-SXT-CHL-TET	$\leq 1$	CTX-M-1	<i>tet(A)</i> , <i>catA</i> , <i>su11</i> , <i>su2</i> , <i>int1</i> ( <i>aadA1</i> )	+/Incl1, IncFIB, IncK	ESBL ( <i>bla<sub>CTX-M-1</sub></i> )/IncK	
	Djeïfa	X812	B1/ST5087	AMP-AMC-CTX-NAL-ENR-SXT-CHL-TET	$\leq 1$	CTX-M-1	<i>tet(A)</i> , <i>catA</i> , <i>su12</i> , <i>int1</i> ( <i>aadA1</i> )	+/Incl1, IncK	ESBL ( <i>bla<sub>CTX-M-1</sub></i> )/IncK	
	Aïn Ouessara	X1918	B1/ST5087	AMP-CTX-NAL-ENR-SXT-TET	$\leq 1$	CTX-M-1	<i>tet(A)</i> , <i>int1</i> , <i>su13</i>	NP/IncK	/	
	Djeïfa	X1915	B1/ST6448	AMP-CTX-CAZ-NAL-ENR-SXT-TET	$\leq 1$	CTX-M-55	<i>tet(A)</i> , <i>su12</i> , <i>int1</i>	+/IncK	ESBL ( <i>bla<sub>CTX-M-1</sub></i> )/IncK	
	Aïn Ouessara	X1914	A/ST23	AMP-CTX-NAL-TET	$\leq 1$	CTX-M-15	<i>tetB</i>	-/IncFIB	/	
	Aïn Maabaâd	X1917	A/ST48	AMP-CTX-CAZ-NAL-NEO-SXT-TET	$\leq 1$	SHV-12+TEM-1	<i>tet(A)</i> , <i>su11</i> , <i>int1</i> ( <i>aadA1</i> )	+/Incl1, IncFIB, IncK	ESBL-SXT-TET ( <i>bla<sub>SHV-12</sub></i> , <i>su12</i> , <i>tetA</i> )/Incl1+ <i>FIB</i>	
	Djeïfa	X1913	B2/ST131	AMP-AMC-CTX-NAL-ENR-SXT-TET	$\leq 1$	CTX-M-15	<i>tet(A)</i> , <i>su11</i> , <i>int1</i>	NP/IncFIB	/	
	Djeïfa	X1916	B2/ST131	AMP-AMC-CTX-NAL-ENR-GEN-SXT-TET	$\leq 1$	CTX-M-15+TEM-1	<i>tet(A)</i> , <i>su11</i> , <i>int1</i> , <i>aac3-(II)</i>	NP/Incl1, IncFIB, IncK	/	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Messaâd	X813	ST2010	AMP-AMC-CTX-CAZ-NAL-TET	$\leq 1$	CTX-M-15+SHV-1	<i>tet(A)</i>	+/Incl1, IncK	ESBL ( <i>bla<sub>CTX-M-15</sub></i> )/non-typable
			X814	ST2010	AMP-AMC-CTX-CAZ-NAL-SXT-TET	$\leq 1$	CTX-M-15+SHV-1	<i>tet(A)</i> , <i>su12</i>	+/Incl1	ESBL ( <i>bla<sub>CTX-M-15</sub></i> )/non-typable
Znina		X1920	ST3483	AMP-AMC-CTX-CAZ-NAL-SXT-TET	$\leq 1$	CTX-M-15+SHV1+TEM-1	<i>tet(A)</i> , <i>su12</i> , <i>int1</i>	+/Incl1	ESBL ( <i>bla<sub>CTX-M-15</sub></i> )/Inc11	
Hassi Babbah		X1921	ST3483	AMP-CTX-NAL-SXT-TET	$\leq 1$	CTX-M-15	<i>tet(A)</i> , <i>su12</i> , <i>int1</i>	-/IncFIB	/	
								NP/IncFIB	/	

AMP, ampicillin; AMC, amoxicillin/clavulanic acid; CTX, ceftaxime; CAZ, ceftazidime; NAL, nalidixic acid; ENR, enrofloxacin; GEN, gentamicin; NEO, neomicin; SXT, trimethoprim/sulfamethoxazole; CHL, chloramphenicol; TET, tetracycline; MIC, minimum inhibitory concentration; ESBL, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase; +, ESBL transferred by conjugation; -, ESBL not transferred by conjugation; NP, not performed.

TABLE 2. GENETIC CHARACTERISTICS IN THE 65 NON-EXTENDED-SPECTRUM  $\beta$ -LACTAMASE-PRODUCING *ESCHERICHIA COLI* ISOLATES OF FOOD LIVER SAMPLES

Resistance trait	Number of resistant isolates	Detected resistance genes	Positive isolates, n (%)
Tetracycline	64	<i>tet(A)</i> <i>tet(B)</i>	48 (75) 7 (10.9)
Ampicillin and/or amoxicillin-clavulanic acid	49	<i>bla<sub>TEM</sub></i>	28 (57.1)
Sulfonamides	46	<i>sul2</i> <i>sul1</i> <i>sul3</i>	20 (43.5) 10 (21.7) 4 (8.7)
Chloramphenicol	10	<i>cmlA</i> <i>catA</i>	7 (70) 3 (30)
Gentamicin	4	<i>aac-(3)-II</i>	4 (100)

Moreover, there are several bacterial avian diseases (caused by Enterobacteriaceae) where the liver is affected, and so, the isolation of Enterobacteriaceae from the inside of liver samples might also be related to the occurrence of eventual bacterial diseases, mainly the avian colibacillosis caused by avian pathogenic *E. coli* strains.<sup>4</sup>

The poultry farming system in Algeria ranges from small family farms to intensive industrial large-scale capacities. Small poultry units are made of plastic houses where the ambient conditions are difficult to manage (humidity, ventilation, and temperature),<sup>22</sup> which lead to the occurrence of diseases in livestock. Broilers are then distributed to either legal slaughterhouses where sanitary poultry inspection is carried out and distribution to butchers is performed in refrigerated trucks, or to clandestine slaughterhouses where chickens are slaughtered and sold illegally in bad hygienic conditions, and the risk of the nonseizure of carcasses affected could be high.

Among the 136 samples, 8 *E. coli* and 5 *K. pneumoniae* were carriers of ESBL-encoding genes (5.9% and 3.7%, respectively). The occurrence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in animal and food settings vary within continents and countries, depending on many variables, including sampling conditions and isolation methods, which makes comparisons difficult to perform. Carriage rates of ESBL producers in food and healthy food-producing animals, ranged from 13% to 35% in Tunisia.<sup>6,10,18</sup> In Algeria, frequencies of 1.6% and 26.2% of ESBL-producing *E. coli* recovered from broiler with colibacillosis and healthy broilers, respectively, were reported.<sup>5,23</sup> Likewise, a rate of 12% was communicated from ready-to-eat sandwiches containing meat from different regions of Béjaia city, and 27.5% of ground beef samples were found to contain ESBL-producing *E. coli* in Algiers.<sup>13,24</sup> Our study provides an additional evidence that broiler-derived food in Algeria continues to constitute a worrying source of ESBL and/or MDR-producing Gram-negative bacilli, with *E. coli* and *K. pneumoniae* being the most common hosts.

One of the major reasons for the appearance of ESBL strains in Algerian poultry production is the high rate of

resistance levels recorded against the majority of authorized antibiotics, and therapeutic failures. Accordingly, many poultry farmers use third-generation cephalosporins (ceftiofur), which is indicated for cattle and is not allowed to be marketed in Algeria as an injectable agent, to compensate for the lack of effectiveness of the other failed antibiotics. In fact, the range of cephalosporins available for use in veterinary medicine is supposed to be limited compared with humans. Ceftiofur has been developed strictly for veterinary use, for the treatment of respiratory infections.<sup>25</sup> However, it has been demonstrated that third-generation cephalosporins, such as ceftiofur, in food animals is leading to resistance to other extended-spectrum cephalosporins, and could be hugely associated with the short-term increase of ESBL-producing *E. coli* in the gut of chicks.<sup>26</sup>

As expected, the *bla<sub>CTX-M</sub>* variants were the most prevalent ESBL genes reported in this study. These results reinforce the previous background about the global expansion of the *bla<sub>CTX-M</sub>* in poultry and other food-producing animals worldwide.<sup>2,9,27–30</sup> The *bla<sub>CTX-M-15</sub>*, which remains the most worldwide disseminated genotype, was detected in three *E. coli* and in all the *K. pneumoniae* isolates. This finding matches perfectly other studies showing that the contribution of this enzyme has awfully emerged in clinical and nonclinical settings, both in the developing and developed worlds. The horizontal transfer of *bla<sub>CTX-M</sub>* genes on conjugative plasmids and their location on mobile genetic elements are the major causes to their evolution and global spread.<sup>31,32</sup> In Algeria, the first report of the *bla<sub>CTX-M-15</sub>* goes back to 2006.<sup>33</sup> Furthermore, high frequencies were described from distinct environments: in hospitals,<sup>1,34</sup> livestock animals,<sup>4,24</sup> companion animals,<sup>35</sup> wild animals,<sup>36</sup> seawater,<sup>37</sup> and wild fish.<sup>38</sup> Recently, a 2019 study announced the occurrence of this genotype in *K. pneumoniae* isolates from Algerian fresh fruits and vegetables.<sup>39</sup> *E. coli* with *bla<sub>CTX-M-1</sub>* and *bla<sub>SHV-12</sub>* genes have been identified among our isolates with lower frequencies. On the other hand, the *bla<sub>CTX-M-1</sub>* was known to be the most prevailing ESBL in livestock animals, mainly in Mediterranean countries.<sup>7,28</sup> This verdict suggests the possibility of interspecies dissemination of ESBL genes, mainly the *bla<sub>CTX-M-15</sub>*.<sup>40</sup>

In Algeria, the *bla<sub>SHV-12</sub>* has been already reported from humans and animals.<sup>1,3,41</sup> The low rate of *bla<sub>SHV</sub>* mentioned in this study joins other data, in which these genes have been described to not undergo the explosive spread that *bla<sub>CTX-M</sub>* variants have expressed.<sup>32,42</sup> This result supports the hypothesis that *bla<sub>SHV</sub>* genes are particularly associated to health care infections. Moreover, our results indicate, interestingly, the isolation of a *bla<sub>CTX-M-55</sub>*-harboring *E. coli* isolate. Very recently, Hassen *et al.* (2019)<sup>19</sup> have communicated the first detection of *bla<sub>CTX-M-55</sub>* from chicken feces and raw meat in Tunisia. To the best of our knowledge, this would be the first report of this genotype from Algeria. These two new reports, both from poultry, could be regarded as an alarming sign of the eventual dissemination of an unusual group 1 *bla<sub>CTX-M</sub>* variant in North Africa.

The detection of *bla<sub>CTX-M-55</sub>* could be explained by the evolutionary potential of the CTX-M enzymes by a mutation in the *bla<sub>CTX-M-15</sub>* gene by a single amino acid substitution (valine for alanine at position 80).<sup>43</sup> This mutation was first

encountered in clinical *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates from hospitalized patients in Thailand.<sup>43</sup> Thereafter, the large dissemination of this variant throughout Asian countries has been demonstrated.<sup>44–47</sup>

Phylogenetic grouping and MLST have shown a great genetic diversity among ESBL-producing *E. coli* isolates in this study (five different sequence types). Most of our ESBL-producing *E. coli* isolates belonged to phylogroups B1 and A (four and two isolates, respectively), which demonstrates the dominance of commensal strains among our isolates.<sup>28</sup> Among the phylogenetic group A, ST23 and ST48 were identified in two *E. coli* isolates, carrying, respectively, the *bla*<sub>CTX-M-15</sub> and the *bla*<sub>SHV-12</sub> genes. Previous reports have indicated the dissemination of these clones in chicken retail meat and poultry farms, but with different ESBL types.<sup>48,49</sup> This concept suggests that horizontal gene transfer of various ESBL types can occur among the same lineage of *E. coli* isolates. Concerning those assigned to B1 phylogroup, ST5087 and ST6448 were detected in *bla*<sub>CTX-M-1</sub> and *bla*<sub>CTX-M-55</sub>-containing strains, respectively. No data are currently available in the literature on the epidemiology of these two clonal lineages, which requires further complementary studies.

Worryingly, the presence of the epidemic B2/ST131 *E. coli* clone, which is classified as one of the most relevant extra-intestinal pathogenic lineages,<sup>50</sup> was also highlighted in our study among two ESBL-producing *E. coli* isolates. The fact that both ST131 strains were CTX-M-15 producers, demonstrates that pathogenic *E. coli* have developed resistance to extended-spectrum beta-lactams relevant to therapeutic in humans and animals. Indeed, many authors have clarified a lot about the epidemiology of this lineage and have hypothesized that ST131 may now be contributing importantly to antimicrobial-resistant *E. coli* infections worldwide.<sup>40,51</sup> However, African investigations remain scarce. In Algeria, the *bla*<sub>CTX-M-15</sub>-harboring B2/ST131 clone was reported in uropathogenic *E. coli* from nonhospitalized patients,<sup>52</sup> and from wild fish in Mediterranean Sea.<sup>38</sup> This study could be the first report of *bla*<sub>CTX-M-15</sub>-containing clone B2/ST131 from food in Algeria.

In ESBL-producing *K. pneumoniae* isolates, the lineage ST2010 was identified in three isolates. This ST2010 clone seems to play an epidemiological role, given that it was revealed in a carbapenem-resistant *K. pneumoniae* isolate from children's hospital in China.<sup>53</sup> Furthermore, two CTX-M-15-producing *K. pneumoniae* isolates from two different zones were clustered into the same sequence type (ST3483).

Transferability of the *bla*<sub>CTX-M</sub> genes from our ESBL-producing isolates was associated with the acquisition of IncK and IncI1 plasmids, whereas the *bla*<sub>SHV-12</sub> transconjugant acquired the IncFIB and the IncI1 replicon plasmids. These findings illustrate the diversity of plasmid incompatibility groups that potentially might harbor ESBL genes in Enterobacteriaceae from chicken in Algeria, and demonstrate the role of the foodborne pathway in ESBL-gene transmission by horizontal gene transfer, mediating the mobilization of genetic material from one bacterium to another.<sup>54</sup> Furthermore, in agreement with other studies on food and food-producing animals,<sup>13,28</sup> class 1 integrons were present among ESBL and non-ESBL isolates, with the presence of streptomycin (*aadA1*) and trimethoprim (*dhfrA1*)

resistance genes inside their variable regions. These mobilizable genetic elements are known to be major contributors of the emergence, recombination, and expansion of multi-drug resistance among bacteria.<sup>55</sup>

Finally, our study reports an extremely high rate of MDR among *E. coli*/*K. pneumoniae* isolates from broiler liver commercialized in Djelfa area (86.3% in *E. coli* and all *K. pneumoniae* isolates). Similarly, in poultry, elevated phenotypic resistance levels were communicated in Eastern and Western Algeria.<sup>56,57</sup> This is not surprising, given that, most of isolates exhibited a co-resistance to old drug agents used in poultry house, such as tetracycline, sulfonamides, and ampicillin, with *tet(A)*, *sul2*, and *bla*<sub>TEM</sub> being the most common corresponding genotypes, respectively. In general, in Algerian poultry houses, we notice the high use of one or more antibiotics, sold at very affordable prices: fluorquinolones (enrofloxacin), beta-lactam agents (ampicillin and amoxicillin), and tetracycline. This use is excessive because of the frequent presence, in the Algerian poultry farms, of many viral health problems that lead to inevitable bacterial secondary infections, mainly colibacillosis caused by *E. coli*. In addition, several authors have mentioned that antimicrobials are excessively administered by breeders from day 1 to slaughter, in Algerian chicken farms, for therapeutic purpose (e.g.,  $\beta$ -lactams and fluorquinolones for respiratory infections), preventive purpose (e.g., sulfonamides against salmonellosis and coccidiosis), or both, therapeutically and prophylactically.<sup>23,56</sup> All these practices may lead to the emergence of resistance in commensal bacteria, which represents an impressive sign of selection pressure.<sup>58</sup> Co-selection could be another way of selection of MDR bacteria, including ESBL-producers.

## Conclusion

Relevant ESBL genes (*bla*<sub>CTX-M-1</sub>, *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>CTX-M-55</sub>, and *bla*<sub>SHV-12</sub>) in *E. coli* or *K. pneumoniae*, and *bla*<sub>CTX-M-15</sub>-containing clone B2/ST131 in *E. coli* isolates were detected in Algerian retail chicken liver. These findings reveal a serious public health concern, given that, such strains could be transmitted to human consumers through the food chain, generating an eventual public health risk. Complementary studies about the impact on human health should be further designed.

## Acknowledgment

The authors thank students from Life and Natural Sciences Institute (University of Djelfa, Algeria) for their contribution in sampling and strains isolation.

## Disclosure Statement

No competing financial interests exist.

## Funding Information

N.S.C. was awarded a grant for the year 2018, from the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research (The PNE Program), under the direction of Pr. Carmen Torres. Molecular characterization of the strains achieved in the University of La Rioja (Spain) was

supported by project SAF2016-76571-R from the Agencia Estatal de Investigación (AEI) of Spain and the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) of EU. I.C. has financial support of "Fundação para a Ciência e Tecnologia" (FCT - Portugal), through the reference SFRH/BD/133266/2017 (Medicina Clínica e Ciências da Saúde). L.R.-R. has a predoctoral fellowship from the Universidad de La Rioja (Spain). O.M.M. has a predoctoral fellowship from Mujeres por Africa/Universidad de La Rioja (Spain).

#### References

- Zenati, F., A. Barguigua, K. Nayme, F. Benbelaid, A. Khadir, C. Bellahsene, M. Bendahou, H. Hafida, and M. Timinouni. 2019. Characterization of uropathogenic ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in western Algeria. *J. Infect. Dev. Ctries.* 13:291–302.
- Alonso, C.A., M. Zarazaga, R. Ben Sallem, A. Jouini, K. Ben Slama, and C. Torres. 2017. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* in husbandry animals: the African perspective. *Lett. Appl. Microbiol.* 64:318–334.
- Riaño, I., M.A. Moreno, T. Teshager, Y. Sáenz, L. Dominguez, and C. Torres. 2006. Detection and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Salmonella enterica* strains of healthy food animals in Spain. *J. Antimicrob. Chemother.* 58:844–847.
- Meguenni, N., L. Le Devendec, E. Jouy, M. Le Corvec, S. Bounar-Kechih, R. Bakour, and I. Kempf. 2015. First description of an extended-spectrum cephalosporin- and fluoroquinolone-resistant avian pathogenic *Escherichia coli* clone in Algeria. *Avian Dis.* 59:20–23.
- Belmahdi, M., S. Bakour, C. Al-Bayssari, A. Touati, and J.M. Rolain. 2016. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase- and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Béjaia, Algeria. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 6:108–112.
- Maamar, E., S. Hammami, C.A. Alonso, N. Dakhli, M.S. Abbassi, S. Ferjani, Z. Hamzaoui, M. Saidani, C. Torres, and I. Boutiba-Ben Boubaker. 2016. High prevalence of extended-spectrum and plasmidic AmpC beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from poultry in Tunisia. *Int. J. Food Microbiol.* 231:69–75.
- Casella, T., M.C.L. Nogueira, E. Saras, M. Haenni, and J.Y. Madec. 2017. High prevalence of ESBLs in retail chicken meat despite reduced use of antimicrobials in chicken production, France. *Int. J. Food Microbiol.* 257: 271–275.
- Jouini, A., K. Ben Slama, N. Klibi, R. Ben Sallem, V. Estepa, L. Vinué, Y. Saenz, F. Ruiz-Larrea, A. Boudabous, and C. Torres. 2013. Lineages and Virulence Gene Content among Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains of Food Origin in Tunisia. *J. Food Prot.* 76:323–327.
- Falgenhauer, L., C. Imirzalioglu, K. Oppong, C.W. Aken-ten, H. Benedikt, K. Ralf, R. Sven, L. Vinzent, S. Oliver, S. Nimako, O. Ellis, M. Jürgen, and E. Daniel. 2019. Detection and Characterization of ESBL-Producing *Escherichia coli* From Humans and Poultry in Ghana. *Front. Microbiol.* 9:3358.
- Abbassi, S.M., B. Hassen, S. Zniter, A. Dimassi, and R. Mansouri. 2017. ESBL/Cephalosporinase-Producing *Escherichia coli* from retail poultry meat in Tunisia: Prevalence of *bla*<sub>CTX-M</sub> gene and multi-drug resistance. *J. Microbes Microbio. Tech.* 1:102.
- Olsen, R.H., M. Bisgaard, U. Löhren, B. Robineau, and H. Christensen. 2014. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from poultry: a review of current problems, illustrated with some laboratory findings. *Avian Pathol.* 43:199–208.
- Saliu, E.M., W. Vahjen, and J. Zentek. 2017. Types and prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in poultry. *Anim. Health Res. Rev.* 18:46–57.
- Rebbah, N., Y. Messai, P. Châtre, M. Haenni, J.Y. Madec, and R. Bakour. 2018. Diversity of CTX-M extended-spectrum beta-Lactamases in *Escherichia coli* isolates from retail raw ground beef: first report of CTX-M-24 and CTX-M-32 in Algeria. *Microb. Drug Resist.* 24:896–908.
- Ventola, C.L. 2015. The antibiotic resistance crisis: part I: causes and threats. *Pharm. Ther.* 40:277–283.
- Frieri, M., K. Kumar, and A. Boutin. 2017. Antibiotic resistance. *J. Infect. Public Health.* 10:369–378.
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI, USA.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2020. Available at [www.eucast.org](http://www.eucast.org).
- Jouini, A., L. Vinué, K. Ben Slama, Y. Saenz, N. Klibi, S. Hammami, A. Boudabous, and C. Torres. 2007. Characterization of CTX-M and SHV extended-spectrum beta-lactamases and associated resistance genes in *Escherichia coli* strains of food samples in Tunisia. *J. Antimicrob. Chemother.* 60:1137–1141.
- Hassen, B., M.S. Abbassi, L. Ruiz-Ripa, O.F. Mama, A. Hassen, C. Torres, and S. Hammami. 2019. High prevalence of *mcr-1* encoding colistin resistance and first identification of *bla*<sub>CTX-M-55</sub> in ESBL/CMY-2-producing *Escherichia coli* isolated from chicken faeces and retail meat in Tunisia. *Int. J. Food Microbiol.* 318: 108478.
- Clermont, O., S. Bonacorsi, and E. Bingen. 2000. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:4555–4558.
- Carattoli, A., A. Bertini, L. Villa, V. Falbo, K.L. Hopkins, and E.J. Threlfall. 2005. Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J. Microbiol. Methods.* 63: 219–228.
- Kaci, A., and H. Kheffache. 2018. Production and startup of broiler chicken in the Wilaya of Médéa (Algeria). [translated from French]. *Les Cahiers Du CREAD.* 118: 113–132.
- Halfaoui, Z., N.M. Menoueri, and L.M. Bendali. 2017. Serogrouping and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from broiler chicken with colibacillosis in center of Algeria. *Vet. World.* 10:830–835.
- Yaici, L., M. Haenni, V. Métayer, E. Saras, F. Mesbah Zekar, M. Ayad, A. Touati, and J.-Y. Madec. 2017. Spread of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the community through ready-to-eat sandwiches in Algeria. *Int. J. Food Microbiol.* 245:66–72.
- Hornish, R.E., and S.F. Kotarski. 2002. Cephalosporins in veterinary medicine - ceftiofur use in food animals. *Curr. Top. Med. Chem.* 2:717–731.

26. Saraiva, M.M.S., A.L.B. Moreira Filho, O.C. Freitas Neto, N.M.V. Silva, P.E.N. Givisiez, W.A. Gebreyes, and J.B.C. Oliveira. 2018. Off-label use of ceftiofur in one-day chicks triggers a short-term increase of ESBL-producing *E. coli* in the gut. *PLoS One*. 13: e0203158.
27. Briñas, L., M.A. Moreno, T. Teshager, Y. Sáenz, M.C. Porrero, L. Domínguez, and C. Torres. 2005. Monitoring and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain in 2003. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1262–1264.
28. Ben Sallem, R., K. Ben Slama, Y. Sáenz, B. Rojo-Bezarez, V. Estepa, A. Jouini, H. Gharsa, N. Klibi, A. Boudabous, and C. Torres. 2012. Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-and CMY-2-Producing *Escherichia coli* isolates from healthy food-producing Animals in Tunisia. *Foodborne Pathogens Dis.* 9:1137–1142.
29. Dahms, C., N.O. Hübner, A. Kossow, A. Mellmann, K. Dittmann, and A. Kramer. 2015. Occurrence of ESBL-Producing *Escherichia coli* in Livestock and Farm Workers in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. *PLoS One*. 10:e0143326.
30. Shin, S.W., M. Jung, H.G. Won, K.M. Belaynehe, I.J. Yoon, and H.S. Yoo. 2017. Characteristics of Transmissible CTX-M- and CMY-Type  $\beta$ -Lactamase-producing *Escherichia coli* isolates collected from Pig and Chicken Farms in South Korea. *J. Microbiol. Biotechnol.* 27:1716–1723.
31. Doi, Y., A. Iovleva, and R.A. Bonomo. 2017. The ecology of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) in the developed world. *J. Travel Med.* 24:S44–S51.
32. Mohsin, M., S. Raza, K. Schaufler, N. Roschanski, F. Sarwar, T. Semmler, P. Schierack, and S. Guenther. 2017. High Prevalence of CTX-M-15-Type ESBL-Producing *E. coli* from Migratory Avian Species in Pakistan. *Front. Microbiol.* 8:2476.
33. Touati, A., S. Benallaoua, D. Forte, J. Madoux, L. Brasme, and C. De Champs. 2006. First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Bejaia, Algeria. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 27:397–402.
34. Lagha, N., D.J. Abdelouahid, H. Hassaine, F. Robin, and R. Bonnet. 2014. First characterization of CTX-M-15 and DHA-1  $\beta$ lactamases among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Laghouat Hospital, Algeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 8:1221–1227.
35. Yousfi, M., A. Mairi, A. Touati, L. Hassissene, L. Brasme, T. Guillard, and C. De Champs. 2016. Extended spectrum  $\beta$ -lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* fecal isolates from healthy companion animals in Algeria. *J. Infect. Chemother.* 22: 431–435.
36. Bachiri, T., S. Bakour, R. Ladjouzi, L. Thongpan, J.M. Rolain, and A. Touati. 2017. High rates of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in wild boars and Barbary macaques in Algeria. *J. Global Antimicrob. Resist.* 8:35–40.
37. Alouache, S., M. Kada, Y. Messai, V. Estepa, C. Torres, and R. Bakour. 2012. Antibiotic resistance and extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in isolated bacteria from seawater of Algiers beaches (Algeria). *Microbes Environ.* 27: 80–86.
38. Brahmi, S., C. Dunyach-Rémy, A. Touati, and J.P. Lavigne. 2015. CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. *Clin. Microbiol. Infect.* 21:e18–e20.
39. Mesbah Zekar, F., S.A. Granier, A. Touati, and Y. Millemann. 2019. Occurrence of Third-Generation Cephalosporins-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Fresh Fruits and Vegetables Purchased at Markets in Algeria. *Microb. Drug Resist.* 26:353–359.
40. Ewers, C., M. Grobbel, I. Stamm, P.A. Kopp, I. Diehl, T. Semmler, F. Fruth, J. Beutlich, B. Guerra, L.H. Wieler, and S. Guenther. 2010. Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *J. Antimicrob. Chemother.* 65:651–660.
41. Iabadene, H., Y. Messai, H. Ammari, N. Ramdani-Bouguessa, S. Lounes, R. Bakour, and G. Arlet. 2008. Dissemination of ESBL and Qnr determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria. *J. Antimicrob. Chemother.* 62:133–136.
42. Cantón, R., J.M. González-Alba, and J.C. Galán. 2012. CTX-M Enzymes: origin and diffusion. *Front. Microbiol.* 3:110.
43. Kiratisin, P., A. Apisarnthanarak, P. Saifon, C. Laesripa, R. Kitphati, and L.M. Mundy. 2007. The emergence of a novel cefazidime-resistant CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamase, CTX-M-55, in both community-onset and hospital-acquired infections in Thailand. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 58: 349–355.
44. Lee, W., H.S. Chung, H. Lee, J.H. Yum, D. Yong, S.H. Jeong, K. Lee, and Y. Chong. 2013. CTX-M-55-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Shigella sonnei* isolated from a Korean patient who had travelled to China. *Ann. Lab. Med.* 33:141–144.
45. Lukman, D.W. M.B. Sudarwanto, T. Purnawarman, H. Latif, H. Pisestyani, E. Sukmawinata, and O. Akineden. 2016. CTX-M-1 and CTX-M-55 Producing *Escherichia coli* Isolated from Broiler Feces in Poultry Slaughterhouse, Bogor, West Java Province. *Global Adv. Res. J. Med. Med. Sci.* 5:287–291.
46. Park, H., J. Kim, S. Ryu, and B. Jeon. 2019. Predominance of bla<sub>CTX-M-65</sub> and bla<sub>CTX-M-55</sub> in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* from raw retail chicken in South Korea. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 17: 216–220.
47. Rao, L., L. Lv, Z. Zeng, S. Chen, D. He, X. Chen, C. Wu, Y. Wang, T. Yang, P. Wu, Y. Liu, and J.H. Liu. 2014. Increasing prevalence of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* in food animals and the diversity of CTX-M genotypes during 2003–2012. *Vet. Microbiol.* 172:534–541.
48. Leverstein-van Hall, M.A., C.M. Dierikx, J. Cohen Stuart, G.M. Voets, M.P. Van den Munckhof, A. Van Essen-Zandbergen, T. Platteel, A.C. Fluit, N. Van de Sande-Bruinsma, J. Scharinga, M.J. Bonten, D.J. Mevius, and National ESBL surveillance group. 2011. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clin. Microbiol. Infect.* 17: 873–880.
49. Blaak, H., R.A. Hamidjaja, A.H. Van Hoek, L. De Heer, A.M. De Roda Husman, and F.M. Schets. 2014. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* on flies at poultry farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 80:239–246.
50. Riley, L.W. 2014. Pandemic lineages of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Infect.* 20: 380–390.

51. Johnson, J.R., B. Johnston, C. Clabots, M.A. Kuskowski, and M. Castanheira. 2010. *Escherichia coli* Sequence Type ST131 as the Major Cause of Serious Multidrug-Resistant *E. coli* Infections in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 51:286–294.
52. Yahiaoui, M., F. Robin, R. Bakour, M. Hamidi, R. Bonnet, and Y. Messai. 2015. Antibiotic Resistance, Virulence, and Genetic Background of Community-Acquired Uropathogenic *Escherichia coli* from Algeria. *Microbial. Drug Resist.* 21:516–526.
53. Dong, F., Y. Zhang, K. Yao, J. Lu, L. Guo, S. Lyu, Y. Yang, Y. Wang, H. Zheng, W. Song, and G. Liu. 2018. Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections in a Chinese Children's Hospital: Predominance of New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase-1. *Microb. Drug Resist.* 24:154–160.
54. Cottell, J.L., M.A. Webber, N.G. Coldham, D.L. Taylor, A.M. Cerdeño-Tárraga, H. Hauser, N.R. Thomson, M.J. Woodward, and L.J. Piddock. 2011. Complete sequence and molecular epidemiology of IncK epidemic plasmid encoding blaCTX-M-14. *Emerg. Infect. Dis.* 17:645–652.
55. Domingues, S., G.J. Da Silva, and K.M. Nielsen. 2012. Integrons: Vehicles and pathways for horizontal dissemination in bacteria. *Mob. Genet. Elements.* 2:211–223.
56. Messai, C.R., K. Ait-Oudhia, D. Khelef, T.M. Hamdi, N.S. Chenouf, and M.R. Messai. 2015. Serogroups and antibiotic susceptibility pattern of avian pathogenic *Escherichia coli* strains responsible for colibacillosis in broiler breeding farms in the east of Algeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 9:2358–2363.
57. Benameur, Q., D. Guemour, A. Hammoudi, K. Aoudia, H. Aggad, M.H. Humblet, and C. Saegermang. 2014. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens in West of Algeria. *Int. J. Sci. Basic Appl. Res.* 13:366–370.
58. Van den Bogaard, A.E., and E.E. Stobberingh. 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 14:327–335.

Address correspondence to:

Carmen Torres, PhD  
Área de Bioquímica y Biología Molecular  
Universidad de La Rioja  
Madre de Dios 51  
Logroño 26006  
Spain

E-mail: carmen.torres@unirioja.es

## Résumé :

Les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) engendrent une résistance à la majorité des bêtalactamines. Leur apparition dans les bactéries Gram négatif et leur dissémination coïncident avec l'utilisation d'antibiotiques à large spectre tels que les céphalosporines et les quinolones. Les bactéries productrices de BLSE peuvent occasionner des infections hospitalières et communautaires. Les carbapénèmes restent les molécules de premier choix pour le traitement des infections par les bactéries productrices de BLSE. L'utilisation rationnelle des antibiotiques pourrait contribuer à ralentir la dissémination des bactéries productrices de BLSE.

Compte tenu de la situation actuelle liée à l'émergence du covid-19 qui nous a interdit de mener la partie pratique de ce mémoire de fin d'études, l'objectif de ce manuscrit se limite à générer un aperçu bibliographique sur les entérobactéries et les mécanismes de résistances bactériennes aux antibiotiques, tout en mettant le point sur les BLSE. Une analyse d'un article de recherche publié récemment sur la prévalence des souches entérobactéries productrices de BLSE dans la région de Djelfa a été réalisée.

**Les mots clé :** bêta- lactamase , BLSE , Entérobactéries , Résistance.

## Abstract :

Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) cause resistance to most beta-lactams. Their appearance in Gram negative bacteria and their spread coincide with the use of broad-spectrum antibiotics such as cephalosporins and quinolones. ESBL-producing bacteria can cause hospital and community infections. Carbapenems remain the molecules of first choice for the treatment of infections by ESBL-producing bacteria. Rational use of antibiotics could help slow the spread of ESBL-producing bacteria.

Given the current situation linked to the emergence of covid-19 which has prohibited us from carrying out the practical part of this end of studies thesis, the objective of this manuscript is limited to generating a bibliographic overview on Enterobacteriaceae and mechanisms of bacterial resistance to antibiotics, while focusing on ESBLs. An analysis of a recently published research article on the prevalence of ESBL-producing enterobacteriaceae strains in the Djelfa region was performed.

**The key words:** beta-lactamase, ESBL, Enterobacteriaceae, Resistance.

## ملخص :

تسبب إنزيمات بيتا لاكتامازات واسعة الطيف (ESBLs) مقاومة لمعظم بيتا لاكتامز. يتزامن ظهورها في البكتيريا سالبة الجرام وانتشارها مع استخدام المضادات الحيوية واسعة الطيف مثل السيفالوسبورينات والكينولونات. يمكن أن تسبب البكتيريا المنتجة لـ ESBL عدوى في المستشفيات والمجتمع. تظل الكاربابينيمات هي الجزيئات المختارة في علاج العدوى بالبكتيريا المنتجة لـ ESBL. يمكن أن يساعد الاستخدام الرشيد للمضادات الحيوية في إبطاء انتشار البكتيريا المنتجة لـ ESBL.

نظرًا للوضع الحالي المرتبط بظهور covid-19 الذي منعنا من تنفيذ الجزء العملي من أطروحة نهاية الدراسة هذه ، فإن الهدف من هذه المخطوطة يقتصر على إنشاء نظرة عامة ببيوغرافية عن Enterobacteriaceae و آليات المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية ، مع التركيز على ESBLs. تم إجراء تحليل لمقال بحثي نُشر مؤخرًا حول انتشار سلالات البكتيريا المعوية المنتجة لـ ESBL في منطقة الجلفة.

**الكلمات المفتاحية:** بيتا لاكتاماز ، ESBL ، Enterobacteriaceae ، مقاومة.

135. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2:123–140
136. Gordon DM, Cowling A. 2003. The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: Host and geographic effects. *Microbiology* 149:3575–3586.
137. Freter R, Brickner H, Fekete J, Vickerman MM, Carey KE, Carey E. 1983. Survival and implantation of *Escherichia coli* in the intestinal tract. *Infect Immun* 39:686–703.
138. Berg RD. 1996. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol* 4:430–435.
139. Poulsen LK, Lan F, Kristensen CS, Hobolth P. 1994. Spatial distribution of *Escherichia coli* in the mouse large intestine inferred from rRNA in situ hybridization. *Infect Immun* 62:5191–5194.
140. Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, Denamur E. 2010. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 8:207–217.
141. Savageau M. 1983. *Escherichia coli* habitats, cell types, and molecular mechanisms of gene control. *Am Nat* 122:732–744.
142. Power ML, Littlefield-Wyer J, Gordon DM, Veal DA, Slade MB. 2005. Phenotypic and genotypic characterization of encapsulated *Escherichia coli* isolated from blooms in two Australian lakes. *Environ Microbiol* 7:631–640.