



*POPULAIRE MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT  
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE*



*CENTRE UNIVERSITAIRE SALHI AHMED NAAMA*

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

*Mémoire*

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique en Science biologique  
Spécialité -Microbiologie Appliquée

*Thème :*

**Essai d'isolement des entérobactéries productrices  
de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées au  
niveau d'hôpital Ain sefra -Naama-**

Soutenu le : 16 - 09 - 2020.

Présenté par :

M<sup>lle</sup> RAHAL Fatna.

M<sup>lle</sup> SADAoui Nour elhouda.

Devant le jury :

Président

Mr MERIOUA Sidi Mohammed (M.C.B)

Promotrice

Mme LAGHA Nouria (M.C.A)

Examinatrice

Mme BENGHALEM Ibtissam (M.A.B)

*Année universitaire : 2019/2020*

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا  
إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ  
الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

البقرة - 32



## *Remercîments*

*Nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté d'écrire et de réfléchir pour termine ce travail.*

*Notre encadreur Mme LAGHA Nouria pour la confiance qu'elle nous a témoigné d'avoir accepté de diriger ce travail, pour ses précieux conseils, son aide et surtout pour nous accompagner sincèrement tous au long de ce travail.*

*Nous remercions les membres de jury pour l'honneur qu'ils juger notre travail:*

*A Mr MERIOUA Sidi Mohammed, merci d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Merci pour votre précieux conseils et remarques.*

*A MME BENGHALEM Ibtissam , merci d'avoir accepté d'examiner et de siéger dans ce jury. Merci pour votre disponibilité, vos conseils précieux, votre amabilité.*

*AU directeur de hôpital BOUDIAF Mohamed d' Ain Sefra qui nous permettre faire les applications pratique des prélèvements, ainsi que l'ensemble des chefs services :*

*MS. BAKIRAT chef service de réanimation, Ms. ABBIDINE N chef service de pédiatre et Chef service de maternité sans oublier tous les médecins et les infirmières pour le se tenir à nos côtés.*

*Nous tiens également à faire part de notre gratitude aux personnes qui nous a aidé merci pour leurs accompagnements et leurs conseils durant la durée de notre mémoire. Nous avons vraiment apprécié la pertinence de leurs suggestions au cours des différentes étapes de la réalisation de notre étude spécialement Etablissement Public Hospitalière Hai Amzi et surtout les ingénieurs Mr. NEMAR Mostapha, Mr. MAHYA Boutkhalil et SADOUK Rida.*

*Aux ingénieurs des laboratoires de microbiologie appliquée de l'Université Salhi Ahmed Naama. Merci pour leurs soutiens et leurs présences tout au long de la période de pratique.*

*Nous tenons à remercier tous ceux qui de près ou loin ont participés à la rédaction de ce mémoire.*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...  
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,  
L'amour, le respect, la reconnaissance...*



*Je dédie ce travail...*

*A ma très chère mère REBIE Massouda*

*Je ne trouve pas les mots pour traduire ce que je ressue envers une mère exceptionnelle, j'ai tellement de chance d'être ta fille.*

*Tu m'as donné la vie, l'espoir, la tendresse et le courage pour réussir.*

*Merci pour tous tes sacrifices.*

*A mon père RAHAL Abd Elkader*

*Qui nous a quitté, aucune dédicace ne serait exprimée mes sentiments de l'amour, estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Que Dieu le tout puissant t'accueille dans son vaste paradis.*

*A mon seul tante RAHAL Souria*

*Tout d'abord je veux te dire que je t'aime beaucoup qu'une tante comme toi il n'y en a pas deux. Merci pour ton soutien et l'amour que tu ma portez.*

*A mes chères sœurs Dauia, Zahra, Khadidja, Habiba*

*Mes copines, mes papillons, un morceau de mon âme. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*A mes chères frères Mokadem, Mouhamed, Slimane, Boudjmaa*

*Spécialement mon frères Mokadem considérez comme un père, je vous remercie infiniment pour votre confiances et encouragements je vous aime beaucoup et je n'oublie pas Rebie Boufaldja le mari de ma sœur qui était également concéder comme mon frère.*

*Aux petits enfants Halima, Mokhtar Nadir, Firdaous et Abdelkader*

*Je vous souhaite du succès et une bonne carrière réussie .je vous aime.*

*À toutes mes amies*

*Mon binôme Houda mon conseille, et mon amie fidèle, qui m'a assisté dans les moments Difficiles, aussi mes collègues Fatna, Fahima, Sarra, Soumia, Zahia... pour les jours nos fous rires, nos déceptions et nos éclats de joie.*

*Avec l'expression de ma reconnaissance je dédie ce modeste travail à ceux qui quels, que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*A ma famille, qui m'a dotée d'une éducation digne, son amour à fait de moi ce que je suis aujourd'hui :*

*Mon cher père Sadaoui Slimane*

*Particulièrement à l'homme qui m'a donné ma vie, ma réussite.*

*Mon adorable mère*

*La femme qui a souffert sans me laisser souffrir qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargnée aucun effort pour me rendre heureuse.*

*A ma grande mère*

*La personne la plus idéale dans ce monde que je le dédie c'est vrai qu'elle n'est pas avec nous pour récolter le fruit de ses sacrifices, mais, elle reste toujours là plus présente.*

*A mes grands-pères Abde el Kader Sadaoui et Gachouche Saïde*

*Qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail ils m'ont chaleureusement supportés et encouragés tout au long de mon parcours.*

*A ma grande sœur et mes chères frères Imade, Hoari, Abde el Kader et Yasser*

*Qu'ils trouvent l'expression de mes grands attachements. Qu'ils trouvent le témoignage de mes immenses effectuations en leurs souhaitant la réussite et le bonheur, sans oublier le mari de ma sœur Hocine et leur adorable fille Lodjine.*

*A mon adorable petite sœur Layane*

*Qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*A mes oncles Farhate, Youssef, Mohamede, Smaïle, Abde hake et mon oncle*

*Redouane pour son soutien financier et morale sans oublier mes tentes.*

*A ma très chère amie Fatna d'être toujours à ma cote.*

*Une pensée très spéciale envers nos collègues et nos amis en priori Fatna, Fahima, Farida, Sarra, Soumia, Zahia... pour leur soutien moral et leur esprit de groupe.*

## المخلص:

أصبح مشكل انتشار البكتيريا المعوية المفرزة لأنزيم البيتا لاكتاماز هاجز يورق الكثير من العلماء والأطباء في وقتنا الحاضر، وذلك لخطورتها وسرعة انتشارها مما ينجم عنه صعوبة معالجة الالتهابات التي تسببها هذه البكتيريا المقاومة للأدوية.

ترتكز دراستنا على تقييم وتحديد مدى انتشار هذه البكتيريا المعوية المنتجة للبيتا لاكتاماز ذات المجال الواسع على مستوى مستشفى محمد بوضياف بالعين الصفراء ولاية النعامة.

تم عزل وتحديد المضادات الحيوية وفق الأساليب المعتادة وذلك بنشر الأقراص على وسط أجار، كما قمنا بالبحث عن البيتا لاكتاماز ذات المجال الواسع وفق اختبار التآزر واختبار القرص المزدوج.

قمنا بجمع ما يقارب 13 عينة من مناطق مختلفة: الإفرازات المهبلية، الأنابيب البولية، البراز، الأنابيب الهوائية، الجروح المصابة.

حسب الدراسات التي قمنا بها ومقارنة ببعض النتائج المتحصل عليها من بعض المذكرات تبين أن هناك اختلاف لنسبة الجراثيم المعوية المنتجة للبيتا لاكتاماز ونسبة الجينات *blaCTX-M* , *blaTEM*, *blaSHV* وقد يعود هذا الاختلاف الى عدد السلالات المنتجة للبيتا لاكتاماز في كل دارسة وأخرى.

**الكلمات المفتاحية :** البكتيريا المعوية ، البيتا لاكتاماز ذات المجال الواسع ، المضادات الحيوية.

## ***Résumé :***

Aujourd'hui le problème de la propagation des entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre élargie est devenu une insomnie pour les plus part des savants et médecins à cause de son danger et la rapidité de sa propagation, ce qui cause une difficulté dans le traitement des infections causés par cette bactérie résistances aux antibiotiques.

Notre étude consiste à déterminer la prévalence des EBLSE au niveau de l'hôpital de Mohamed Boudiaf –Ain Sefra- Naama-.

Les souches des entérobactéries ont été isolées et identifiées, la sensibilité aux antibiotiques a été testée par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, et la recherche des EBLSE a été effectuée selon le test de synergie et le test du double disque.

Nous avons collectés environ 13 échantillons de sites différentes : selles, cathéters, pertes vaginale et les plaies infectées.

Selon les études effectués et comparées avec quelque résultats obtenus de quelques mémoires d'études, il a été constatés qu'il y a une différence dans le pourcentage des gènes blaCTX-M, blaTEM, blaSHV. Cette différence est due au nombre de germes productrices de bêta lactamases à spectre élargi d'une étude à une autre .

**Mot clés :** les entérobactéries, bêta lactamase à spectre élargi, antibiotiques.

## ***Abstract :***

Nowday the problem of the propagation of entérobacteries productive of beta lactamase has a big problem for most scientists and doctors because of the danger and the rapidity of its propagation wich cause a difficulty in treating the infections caused by the bacteria resistant to antibiotiques.

Our study consist to determine the prevalence of EBLSE at the level of Mohamed Boudiaf – Ain Sefra- province of Naama.

Enterobacteria were isolated and identified, antibiotic susceptibility was tested by the agar disk diffusion method. As we have done also another reseaech on the béta lactamase of wide caracters under the sunergy test and double dise test.

We collected about 13 samples of different sites : stools, catheters, vaginal discharge and infected pleasures.

Basing on the research we did and compared to a certain results obtained from a few theses of stady it seems that there is a difference in the percentage of produvtives of beta lactamase and the percentage of blaCTX-M, blaTEM, blaSHV genes. Such a difference is due to the number of species producing  $\beta$  lactamase from a stady to another.

**Key words :** enterobacteria, Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase Producing

Enterobacteriaceae, antibiotique.

## Liste des abréviations

ADH : Arginine dihydrolase.

AK : Amikacine.

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique.

AmpC : Adénosine mono phosphate cyclique.

ATM : Aztréoname.

API 20E : Appareils et Procédés d'Identification 20 Entérobactéries.

*blaCTX-M* : Béta lactamase céfotaxime –M.

*blaTEM* : Béta lactamase Temoneira.

*blaSHV* : Béta lactamase sulfhydryl variable.

BLSE :  $\beta$ -lactamases à spectre étendu

C1G : Céphalosporines de première génération.

C2G : Céphalosporines de Deuxième génération.

C3G : Céphalosporines de Troisième génération.

C4G : Céphalosporines de Quatrième génération.

CAZ : Ceftazidime

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

CIP : Ciprofloxacine.

CIT : Citrate.

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute.

CTX-M : Céfotaximases.

CTX : Céfotaxime.

*E. coli*: *Escherichia coli*.

EBLSE : Entérobactéries productrices  $\beta$ -lactamases à spectre étendu.

EDTA : Ethylenediamine tetra acetic acid.

EPAHD : Établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes.

FEP : Céfépime

FOS : Fosfomicine.

GLU : Glucose.

H2S : Sulfure dihydrogène.

IPM : Imipenème

*K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumonia*.

KF: Cepholotine.

*KPC*: *Klebsiella pneumoniae* sécrétrices de carbapénémase.

LAC : Lactose.

LDC : Lisine décarboxylase.

MBLs : Metallo- $\beta$ -Lactamases.

MH : Muller-Hinton.

Mob : Mobilité.

NA : Acide Nalidixique

NDM-1 : New Delhi métallobêta-lactamase.

ODC : Ornithine Decarboxylase

OmpF : Outer membrane porin F.

ONPG : Ortho-nitrophényl- $\beta$ -galactoside.

OXA : Oxacillinase.

PLP : Protéine liant la pénicilline.

R : résistance.

S : Sensible.

*S.enterica* : *Salmonella enterica*

SHV: Sulfhydryl variable.

SXT: Triméthoprime sulfaméthoxazole.

TTC: Ticarcilline +Acide clavulanique

TE: Tétracycline.

TEM: Temoneira

URE : Urée.

VP : *Voges-Proskauer*.

$\mu\text{m}$  : micromètre.

**Liste des Tableaux :**

<b>Tableau 01 :</b> Caractères biochimiques de quelque entérobactérie .....	05
<b>Tableau 02 :</b> Classification simplifiée des $\beta$ -lactamases .....	20
<b>Tableau 03:</b> Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions pour les Entérobactéries .....	34

## Liste des figures :

<b>Figure 01 :</b> Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae.....	04
<b>Figure 02 :</b> <i>E.coli</i> .....	06
<b>Figure 03 :</b> <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	07
<b>Figure 04 :</b> <i>Enterobacter cloacae</i> .....	08
<b>Figure 05 :</b> <i>Salmonella enterica</i> .....	09
<b>Figure 06 :</b> <i>Shigella</i> .....	09
<b>Figure 07 :</b> Structure des pénicillines G, V, M, A, et d'alpha-carboxy-pénicilline .....	11
<b>Figure 08 :</b> Structure générale des céphalosporines .....	12
<b>Figure 09 :</b> Structure des carbapénèmes .....	13
<b>Figure 10 :</b> Structure de monobactame .....	14
<b>Figure 11 :</b> Mécanisme d'action des $\beta$ lactamines .....	15
<b>Figure 12 :</b> Mécanisme de la modification de la cible de l'antibiotique .....	17
<b>Figure 13 :</b> Mécanismes de la résistance bactérienne aux $\beta$ lactamines par efflux actif .....	8
<b>Figure 14 :</b> Mécanisme d'hydrolyse d'une $\beta$ -lactamine par une $\beta$ -lactamase .....	19
<b>Figure 15 :</b> BLSE dérivées de TEM .....	21
<b>Figure 16 :</b> BLSE dérivées de SHV .....	22
<b>Figure 17 :</b> Division des bêta-lactamases de type CTX-M en sous-groupes et positions des substitutions d'acides aminés .....	24
<b>Figure 18 :</b> Site de prélèvement Hôpital Mohammed Boudiaf Ain Sefra .....	25
<b>Figure 19 :</b> Disposition du disque d'antibiotiques pour le test de synergie .....	36
<b>Figure 20 :</b> Schéma de détection des BLSE par le test espagnol .....	37
<b>Figure 21 :</b> Répartition des prélèvements positifs et négatifs .....	38
<b>Figure 22 :</b> Répartition des souches des entérobactéries.....	39
<b>Figure 23 :</b> Répartition des entérobactéries productrice de BLSE selon les espèces.....	39
<b>Figure 24 :</b> Répartition des EBLSE selon les différents sites de prélèvements.....	40
<b>Figure 25 :</b> Répartition EBLSE selon le sexe.....	41
<b>Figure 26 :</b> Répartition des EBLSE selon l'âge des patients .....	41
<b>Figure 27 :</b> Répartition les EBLSE selon les service .....	42
<b>Figure 28 :</b> Taux de résistance des EBLSE aux b lactamines .....	43
<b>Figure 29 :</b> Taux de résistance des EBLSE aux autre antibiotique.....	43

## Liste des Photos :

<b>Photo 01</b> : Isolement et purification d' <i>E. coli</i> (A, B, C) .....	26
<b>Photo 02</b> : Souche d' <i>E. coli</i> sur Mac-conkey .....	27
<b>Photo 03</b> : Observation microscopique après coloration de Gram (G×100) .....	28
<b>Photo04</b> : Test oxydase .....	29
<b>Photo 05</b> : Test monitol mobilité .....	30
<b>Photo 06</b> : Galerie Api 20 E .....	31
<b>Photo07</b> : Réactifs de Galerie Api 20E .....	32
<b>Photo 08</b> : Antibiogramme .....	33
<b>Photo 09</b> : Profil biochimique Api 20 E de la souche d' <i>E. coli</i> avec un biotype 5144570 .....	39
<b>Photo 10</b> : Profil biochimique Api 20 E de la souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> avec un biotype 521577317 .....	40

## Table des matières

Remerciement .....	I
Dédicace .....	II
Résumé .....	III
Liste de tableaux .....	IV
Liste de figures .....	V
Liste de Photos.....	VI

<b>Introduction générale .....</b>	<b>.01</b>
------------------------------------	------------

### **Première partie : Synthèse bibliographique**

<b>Chapitre 01 : les entérobactéries .....</b>	<b>.03</b>
--	------------

1. Entérobactéries .....	.03
2. Historique .....	.03
3. Habitat .....	.03
4. Caractéristique Bactériologique .....	.04
4.1. Caractères morphologiques.....	.04
4.2. Caractères cultureux .....	.04
4.3. Caractères biochimiques .....	.05
5. Principaux Groupes .....	.05
5.1. <i>Escherichia coli</i> .....	.05
5.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	.06
5.3. <i>Enterobacter cloacae</i> .....	.07
5.4. <i>Salmonella enterica</i> .....	.08
5.5. <i>Shigella</i> .....	.09

<b>Chapitre 2 : <math>\beta</math>-lactamines .....</b>	<b>.10</b>
---	------------

1. Définition .....	.10
2. Classification.....	.10
2.1. Pénicillines (pénames) .....	.10
2.2. Céphalosporines .....	.11
2.3. Carbapénèmes (Imipénème) .....	.13
2.4. Monobactames .....	.13

3. Mécanismes d'action .....	14
4. Résistance bactérienne .....	15
5. Types de résistances .....	15
5.1. Résistance naturelle .....	15
5.2. Résistance acquise .....	16
6. Support de la résistance .....	16
6.1. Résistance chromosomique .....	16
6.2. Résistance extra-chromosomique .....	16
7. Mécanismes de la résistance bactérienne aux $\beta$ lactamines .....	16
7.1. Modification de la cible d'antibiotique .....	16
7.2. Diminution de la perméabilité .....	17
7.3. Efflux actif .....	18
7.4. Inactivation enzymatique de l'antibiotique .....	19
<b>Chapitre 03 : <math>\beta</math>-lactamases .....</b>	<b>19</b>
1. Définition .....	19
2. Mode d'action .....	19
3. Classification .....	19
3.1. Classification d'Amber .....	19
3.2. Classification fonctionnelle de Bush-Jacoby-Medeiros .....	20
4. $\beta$ -lactamases à spectre étendu .....	20
4.1. Définition .....	20
4.2. Principaux types de BLSE .....	21
4.2.1. BLSE de type TEM .....	21
4.2.2. BLSE de type SHV .....	22
4.2.3. BLSE de type OXA .....	22
4.2.4. BLSE de Type CTX-M .....	23
5. Les facteurs de risques de portage des entérobactéries productrices des BLSE et les patients à prélever.....	24

## Deuxième partie : Matériel et méthodes

1. Lieu et période d'étude .....	25
2. Prélèvements et Patients .....	25
3. Ensemencement .....	26

4. Isolement et Purification .....	26
5. Identification d'entérobactérie .....	27
5.1. Identification macroscopique .....	27
5.2. Identification microscopique .....	27
5.2.1. Coloration de Gram .....	27
5.3. Identification biochimique .....	29
5.3.1. Test oxydase .....	29
5.3.2. Test Mannitol mobilité .....	30
5.3.3. Galerie Api 20E .....	30
6. Antibiogramme .....	32
7. Test de détection BLSE .....	35
7.1. Test Synergie .....	35
7.2. Méthode des disques combinés : Double disque .....	36

### **Troisième partie : Résultats et Discussion**

<b>I. Résultats .....</b>	<b>38</b>
1. Prélèvements .....	38
2. Recherche sur les EBLE .....	38
3. Identification bactérienne. ....	39
4.1. Répartition des prélèvements selon leur nature .....	40
4.2. Répartition des échantillons selon le sexe .....	40
4.3. Répartition des échantillons selon l'âge des patients .....	41
4.4. Répartition des EBLSE selon les services .....	42
5. Étude de la sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques .....	42
<b>II. Discussion .....</b>	<b>44</b>
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>48</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>50</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>65</b>

# *Introduction*

Les entérobactéries forment une vaste famille de bacilles à Gram négatif regroupés en plusieurs genres et espèces. Ces bactéries sont à l'origine des maladies de gravité très variable, en raison des mécanismes pathogéniques distincts (**MIRABAUD, 2003**).

Les entérobactéries ont en commun une localisation préférentielle au niveau du système digestif, d'où leur appellation « entérobactéries ». Ces bactéries occupent une place importante en pathologie humaine et constituent plus de 80% des germes isolés au laboratoire de biologie médicale (**PEAN et al, 2001**).

La lutte contre les maladies infectieuses est une priorité de santé dans les pays en voie de développement. Toutefois, cette lutte est aujourd'hui compromise par certaines pratiques récurrentes dans nos sociétés. Ce sont, la forte pression de sélection des antibiotiques, l'automédication et la vente anarchique de médicaments en dehors des structures légales qui favorisent l'émergence et la dissémination de bactéries multirésistantes (**BELBEL, 2014**). Aujourd'hui, le niveau de résistance aux antibiotiques a atteint un seuil inquiétant pour de nombreuses bactéries (**PAVAGEAU, 2017**).

Les entérobactéries ont la capacité de produire des  $\beta$ -lactamases qui sont des enzymes inactivent les antibiotiques de la classe des  $\beta$ -lactamines par l'ouverture du cycle bêta-lactame (**JALALZAI, 2018**) qui est l'élément structural commun à toutes les molécules de cette famille (**BOUTAL, 2017**). A ce jour, de nombreuses BLSE (> 230) ont été décrites à travers le monde représentant un problème majeur de santé publique (**COQUE et al, 2008**).

Les entérobactéries productrices de BLSE sont en effet, souvent associées à des épidémies nosocomiales, notamment en unités de soins intensifs et s'accompagnent fréquemment d'une multi-résistance aux différentes classes thérapeutiques (**PATERSON, 2006**). Les infections causées par ces entérobactéries productrices de BLSE sont généralement associées à une morbidité et une mortalité élevées puis à une prolongation de la durée d'hospitalisation et à une augmentation des coûts de traitement (**MASTERTON et al, 2003 ; PATTERSON, 2001**).

La connaissance du profil épidémiologique des entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre élargi à intérêt médical est indispensable pour une meilleure optimisation du traitement empirique des infections à entérobactéries (**PATTERSON, 2001**).

Dans cette étude, nous intéresserons plus particulièrement à :

- Isolement et identification des entérobactéries productrices de BLSE au niveau de l'hôpital Mohammed Boudiaf de Ain sefra -Naama-.
- Evaluer la prévalence de résistance au  $\beta$  lactamase des entérobactéries productrice de BLSE isolées.

*Première partie : Synthèse  
Bibliographique*

## **Chapitre 01 : Les entérobactéries**

### **1. Entérobactéries :**

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries Gram-négatif, qui sont à l'origine de maladies de gravité très variable, en raison de mécanismes pathogéniques distincts. Cette famille est hétérogène car elle se compose d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces. Cependant, tous ces germes ont en commun leur localisation préférentielle au niveau du système digestif – certains faisant d'ailleurs partie de la flore normale – bien qu'ils soient également présents dans l'environnement (**MIRABAUD, 2003**).

### **2. Historique :**

La période de naissance de la famille des *Enterobacteriaceae* est commencée à partir 1937, lorsqu'Otoo Rahn proposa le genre *Enterobacter* pour regrouper les microorganismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques communes et parmi lesquels on trouve déjà des noms tels qu'*Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* et *Shigella*. Deux années après cette description qui concerne 112 espèces, ce nombre fut ramené à 67. Avec les travaux de Don Brenner et de Patrick Grimont, cette famille a connu un essor et beaucoup de nouveaux genres et espèces furent découvertes (**FARMER et al., 1985**).

En 1972, Edward et Ewing intégraient 11 genres et 26 espèces dans la famille des *Enterobacteriaceae* (**BURDASH et al, 1981**). Une année après, 31 genres et 139 espèces étaient caractérisés. En 1985, FARMER et COLL décrivaient 22 genres comprenant 69 espèces et 29 groupes entériques (**FARMER et al, 1985**).

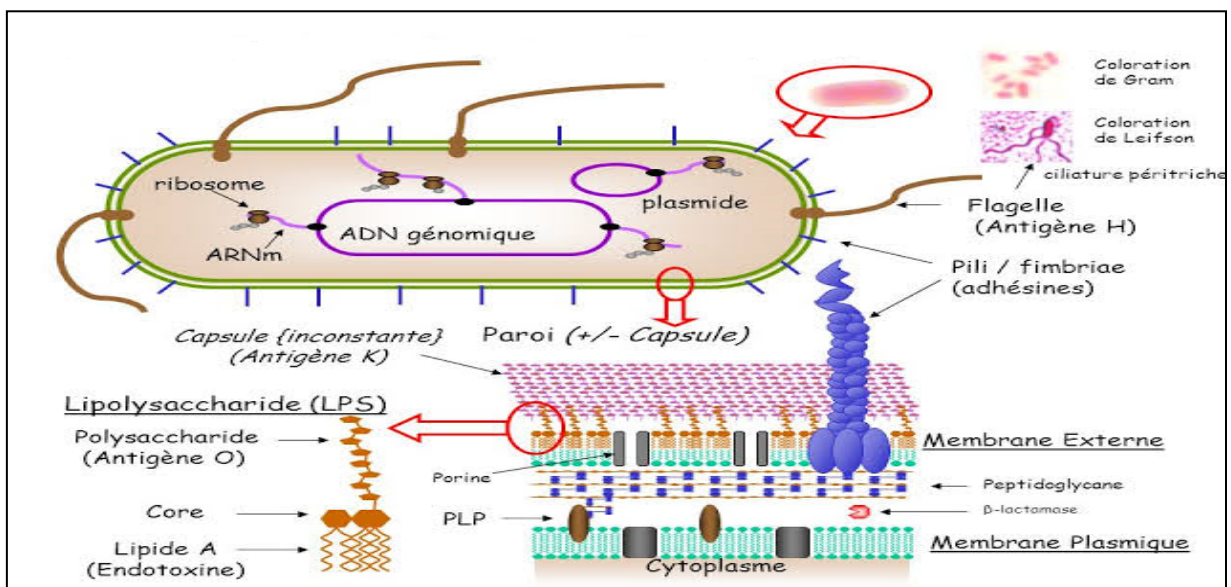
### **3. Habitat :**

Les entérobactéries sont des bactéries ubiquitaires avec un habitat très large. Ce sont des hôtes normaux ou pathologiques du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux ils sont retrouvés soit à l'état de pathogène, soit à l'état de commensaux dans l'intestin terminal, ces bactéries représentent plus de 10% de la flore totale (**GUIRAUD, 2012**).

#### 4. Caractéristique Bactériologique :

##### 4.1. Les caractères morphologiques :

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique de type bacilles à Gram négatif de 2-3 $\mu$  de long sur 0,6 $\mu$  de large, généralement polymorphes. De nombreuses espèces sont mobiles grâce à une ciliature péritriche, et d'autres sont immobiles comme *Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*. La présence d'une capsule chez les Klebsielles. La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili qui sont des facteurs d'adhésion (QUINTEIRA, 1999).



**Figure 01** : Structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae* (DENIS et al., 2007).

##### 4.2. Caractères cultureux :

Le temps de présence des entérobactéries est rapide ; pour la plupart des espèces, les colonies sont formées après 18-24 heures d'incubation à 35-37 °C

(JOLY et REYNAUD, 2002).

Ainsi on distingue 5 types de colonie :

- **Colonie S (smooth)** : Arrondies, lisses, humides, blanches ou translucides.
- **Colonies R (rugueuses)** : A contours irréguliers et mates (bactéries vieilles ou anormales).
- **Colonies M (muqueuses)** : Grosses colonies plus ou moins confluentes (*Klebsiella sp.*).

- **Colonies E(enhahissantes)** : Formation d'un tapis uniforme (*Proteus*) (AKEL, 2014).

### 4.3. Caractères biochimiques :

L'identification des Enterobacteriaceae repose sur l'étude des caractères essentiellement « Biochimiques » et utilisent des tests qui étudient le métabolisme des sucres (glucose, lactose, saccharose etc....), la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzyme (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz (KASSAMA et HAMADI, 2013).

**Tableau 01** : caractères biochimiques de quelque Entérobactéries (KASSAM et HAMADI, 2013).

	<i>E.coli</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LAC	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-		+/-
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
CIT	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mob	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
H2S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

## 5. Principaux Groupes :

### 5.1. *Escherichia coli* :

Une bactérie du genre *Escherichia* est un bacille à coloration de Gram négative, aérobic-anaérobie facultatif (AAF), possédant une nitrate réductase et une catalase, dépourvue d'oxydase et non halophile. *E. coli* est une bactérie mobile avec une structure flagellaire péritriche et non-sporulée. Sa température optimale de croissance est de 37°C. Bactérie non exigeante, elle est capable de croître sur des milieux ordinaires tels que le milieu TSA (trypticase-caséine-soja) (KING et al, 2014).

Les *E. coli* sont des hôtes normaux du tube digestif, de la partie distale de l'iléon et du colon de l'homme et de la plupart des animaux à sang qu'ils colonisent dès les premières heures de la naissance (LE MINOR et VERON, 1998).

Cependant, bien que la majorité des souches d'*Escherichia coli* soient commensales, certaines d'entre elles sont associées à des pathologies intestinales (MONTET, 2009) ou extra-intestinales très diverses chez l'homme. Comme la plupart des pathogènes des muqueuses, les souches d'*Escherichia coli* pathogènes utilisent une stratégie d'infection dont les points clés sont la colonisation de muqueuses, éventuellement l'invasion des cellules, la multiplication, l'évasion des défenses de l'hôte et les dommages à l'hôte (BERGEY'S, 2001). La détermination des combinaisons de propriétés particulières associées à la virulence d'une souche (LEVINE, 1998).



**Figure 02 :** *E. coli* (DANNETTE, 2016).

### **5.2. *Klebsiella pneumoniae* :**

*Klebsiella pneumoniae* est une entérobactérie appartenant au genre *Klebsiella*. Il s'agit d'un bacille à Gram négative toujours immobile et très souvent capsulé poussant sur milieu ordinaire en atmosphère aéro-anaérobie, oxydase négative, fermentant le glucose et le lactose en produisant de l'indole et une uréase et fermentant l'acétoïne, réduisant les nitrates en nitrites (CHIKHANI, 2012).

*K. pneumoniae* est fréquemment isolée de l'environnement (eaux usées, sol, etc....) et de la flore commensale des muqueuses et des voies respiratoires supérieures (SOUGAKOFF et TRYSTRAM, 2003).

*K. pneumoniae subsp. pneumoniae* est surtout actuellement un agent d'infections nosocomiales, responsable d'infections urinaires sur sonde, de bactériémies de pneumonies, d'infections de sites opératoires et d'infections néonatales (CARPENTER, 1990).

*K. pneumoniae subsp. ozaenae* a été également isolée à partir de surinfections de bronchite chronique, de bactériémies, de méningites, d'abcès cérébraux d'otites, de mastoïdites, d'infections urinaires, de surinfections de plaies et d'ulcères de la cornée (STRAMPFER et al, 1987). *K. pneumoniae* occupe une place importante dans la pathologie infectieuse du nouveau-né (BENNET et al, 1985).



**Figure 03 :** *Klebsiella pneumoniae* (COHEN, 2018).

### **5.3. *Enterobacter cloacae* :**

Les *Enterobacter cloacae* est une espèce du genre *Enterobacter* qui fait partie de la famille des Enterobacteriaceae. Ils sont des bacilles à Gram négatif, anaérobies facultatifs, mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur ; ils se déplacent grâce à un flagelle péritriche (PATERSON et BONOMO, 2005).

C'est un germe qui colonise souvent les patients hospitalisés et plus particulièrement ceux traités par antibiotique (STACKEBRANDT et al, 2002). Ils peuvent causer de nombreux types d'infections, y compris abcès cérébraux, pneumonie, méningite, septicémie et infection de plaies, infection des voies urinaires et des infections de la cavité abdominale ou des intestins (FARMER et al, 1985).



**Figure 04 :** *Enterobacter cloacae* (SANDLE, 2019).

#### **5.4. *Salmonella enterica* :**

Le genre *Salmonella* appartient à la famille des Enterobacteriaceae qui sont des hôtes habituels du tube digestif. Sur la base de critères biochimiques, le genre *Salmonella* est subdivisé en deux espèces : *S. enterica* et *S. bongori*. Sur la base de critères phénotypiques, L'espèce *S. enterica* est elle-même divisée en 6 sous-espèces (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *housteanae* et *indica*). (TARGANT, 2010).

La plupart des sérotypes de *salmonelles* connus sont pathogènes pour l'homme, l'animal ou bien les deux comme *Salmonella Typhimurium* (STm) ou *S. Enteritidis* (SE). Chez l'homme, *S. Typhi* est responsable de fièvres typhoïdiques. Les sérotypes ubiquistes, tels que STm et SE déterminent, lorsque la dose infectante est importante ( $10^5$ - $10^6$  bactéries), des gastro-entérites d'origine alimentaire, avec diarrhées, douleurs abdominales, nausées, vomissements. Chez les enfants, les vieillards ou les immunodéprimés des doses plus faibles suffisent à déclencher la pathologie. Chez les nourrissons prématurés et les immun déficients.

Ces infections d'origine digestive peuvent évoluer vers une septicémie ou une méningite (MILLEMANN, 1998).



**Figure05 :** *Salmonella enterica* (TRANA, 2017).

### **5.5. Shigella :**

Le caractère constant chez les Shigelles est l'absence de mobilité, ce qui permet de dire que le milieu de culture (mannitol-mobilité) est le milieu d'identification de ces espèces. Se sont de bactéries auxotrophes, exigent pour leurs croissance la présence de l'acide nicotinique et produisent peu de gaz lors de la fermentation du glucose (LE MINOR et RICHARD, 1993).

Les Shigelles sont des bactéries strictement humaines, elles ne font pas partie de la flore intestinale normale. On ne les retrouve que chez les malades, les convalescents et les rares porteurs sains (BENNANI, 2014).

Les shigelles provoquent chez l'adulte de colites infectieuses et chez l'enfant de gastro-entérites sévères avec diarrhée mucopurulente et sanglante, fièvre et déshydratation. Elles détruisent l'épithélium de côlon et provoquent la production d'une micro ulcération (DENIS, 2011).



**Figure 06 :** *Shigella* (MERIGGI, 2015).

## **Chapitre 02 : $\beta$ -Lactamine**

Les antibiotiques sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la croissance des micro-organismes ou pour les détruire. Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et hémisynthèse. **(BEATRICE et al., 2018)**.

$\beta$ -lactamines représentent la principale famille d'antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans le monde. Cette large utilisation est due à leur large spectre d'action, leur efficacité, leur faible toxicité et leur faible coût pour certaines molécules bactéricides **(LABID, 2014)**.

### **1. Définition :**

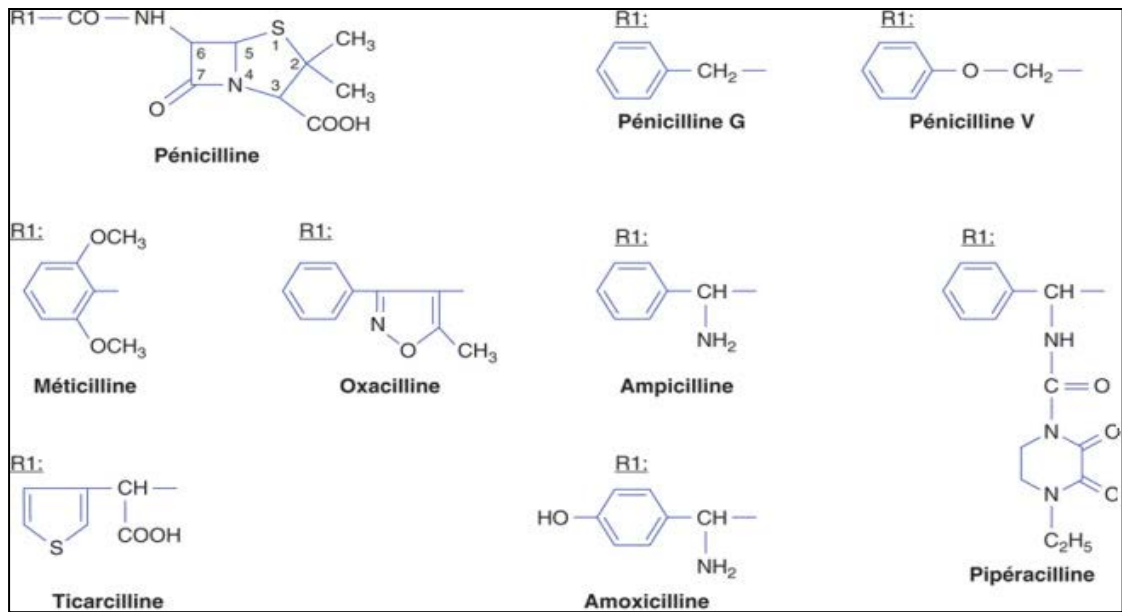
Ce sont des antibiotiques caractérisés par la présence constante du cycle bêta lactame associé à des cycles et des chaînes latérales variables **(CATTOIR, 2004)**.

### **2. Classification :**

Les  $\beta$ -lactamines sont classées en quatre groupes 4 sous familles qui sont : les pénicillines, les céphalosporines, les Monobactames et les Carbapénème. Chaque sous-familles aura sa propre biodisponibilité et son spectre d'activité **(BOUTAL,2017)**.

#### **2.1. Pénicillines (pénames) :**

Il s'agit d'un groupe de molécules, ayant en commun le noyau péname ,qui est caractérisé par un pentacycle saturé (cycle thiazolidine) associé au noyau  $\beta$ -lactame, selon la nature de la chaîne latérale, on peut définir plusieurs sous classes dont les plus utilisées sont les Aminopénicillines (Ampicilline, Amoxicilline) les Carboxypénème (Ticarcillines) les Uréidopénicillines (Pipéracilline) et les Amidinopémicillines (Pivmecilliname) qui sont très actives sur certaines entérobactéries comme : *E. coli*, *Klebsiella*, *Salmonella***(AYAD,2017)**.



**Figure 07 :** Structure des pénicillines G, V, M, A, et d'alpha-carboxyle-pénicilline (BRYSKIER, 1999).

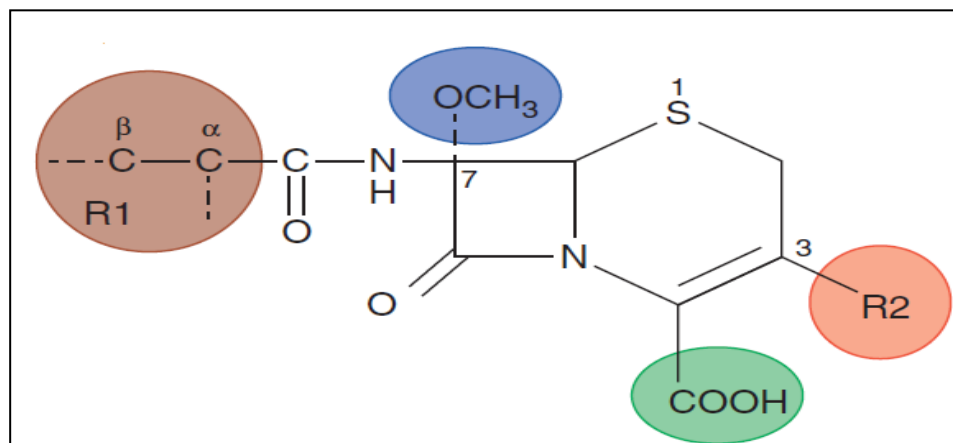
## 2.2. Céphalosporines :

Les céphalosporines constituent une famille de molécules dérivées par héli synthèse de la céphalosporine C. La structure de base, canevas à partir duquel toutes les céphalosporines sont développées, est l'acide 7-aminocéphalosporanique (7-ACA).

Elle est composée d'un noyau Céphème qui comprend un cycle  $\beta$ -lactame fusionné à un cycle dihydrothiazine (NEU,1986). Les céphalosporines sont classées en cinq générations :

- **Céphalosporines de première génération (C1G) :** Les céphalosporines de première génération sont utilisées comme alternatives aux pénicillines pour les infections *Staphylococciques* et *Streptococciques* (BRATZLER et al.,2013). Ils sont plus actifs sur les bactéries à Gram positif, essentiellement les *Streptocoques* et les *Staphylocoques* sensibles à la Méthicilline et sur quelques *Entérobactéries* ne produisant pas de Céphalosporines comme *E coli*, *Salmonella*, *P mirabilis* et *Klebsiella spp* (GHAROUT-SAIT, 2016).

- **Deuxième génération (C2G) :** Leurs propriétés sont très proches de celles des céphalosporines de première génération, elles diffèrent cependant par leur plus grande activité vis-à-vis d'un certain nombre de souches Gram-, mais moins actives sur les bactéries Gram+. Les représentants de C2G sont le Céfamandole et Céfoxitine, sont caractérisées par une meilleure résistance aux  $\beta$ -lactamases à large spectre et un spectre d'action plus étendu au sein des entérobactéries (**LIMBERT et al., 1991**)
- **Troisième génération (C3G) :** Telles que Céfotaxime, Céftazidime, Cette famille comprend des céphalosporines proprement dites et des Céphamycines. Elles 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 (**CAVALLO et al., 2004**).
- **Quatrième génération (C4G) :** comme Le Céfépime elle a une activité accrue contre les bacilles à Gram négatif, en particulier les entérobactéries. C'est un zwitterion qui traverse la membrane externe des bacilles à Gram négatif plus rapidement que les autres céphalosporines. Elle est également moins sensible à l'inactivation par les Céphalosporinases (**BOYER et JEHL, 2019**).



**Figure 08 :** Structure générale des Céphalosporines (**BOYER et JEHL, 2019**).

### 2.3. Carbapénèmes (Imipénème) :

Les Carbapénèmes sont des  $\beta$ -lactamines possédant un très large spectre antibactérien doublé d'une grande stabilité envers la quasi-totalité des  $\beta$ -lactamases. Pour cette raison, ils font partie des antibiotiques utilisés en première ligne au cours du traitement probabiliste des infections nosocomiales sévères. Trois molécules sont commercialisées : l'Imipénème, le Méropénème et l'Ertapénème (WOLFF *et al.*, 2009). L'activité in vitro des Carbapénèmes est conservée à l'égard des entérobactéries productrices de BLSE ou de Céphalosporinases déréprimées, mais les CMI augmentent d'un facteur 2 à 3 selon l'espèce bactérienne et l'antibiotique concernés (GRALL *et MULLER-SERIEYS*, 2013).

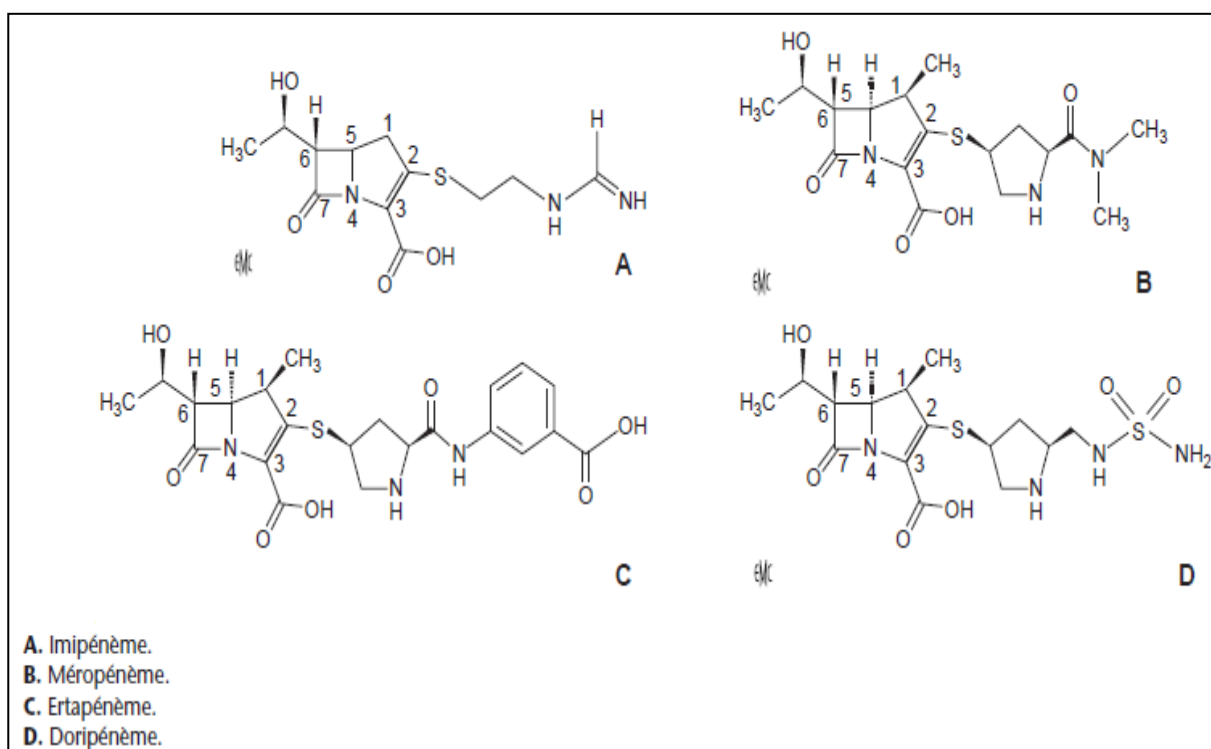
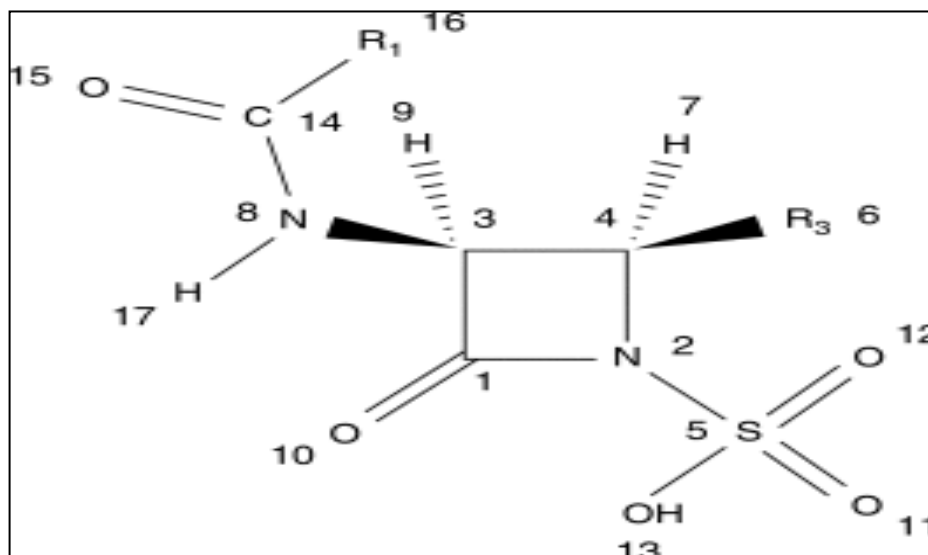


Figure 09 : Structure des Carbapénèmes (GRALL *et MULLER-SERIEYS*, 2013).

### 2.4. Monobactames :

Ce sont des  $\beta$ -lactamines caractérisées par une structure monocyclique différant du double cycle rencontré dans les pénicillines ou les céphalosporines (CAVALLO *et al.*, 2004). Les Monobactames naturels sont de faibles agents antibactériens, mais ils se caractérisent par une très bonne résistance à l'action des  $\beta$ -lactamases. La seule molécule commercialisée est l'Aztréonam Il est actif sur un nombre élevé d'*Enterobacteriaceae* (GAZENDEL *et ORECCHIONI*, 2013 ; MOULIN *et COQUEREL*, 2002).



**Figure 10** : Structure de monobactame (BEATRICE,2018).

### 3. Mécanismes d'action :

Les cibles des  $\beta$ -lactamines sont les protéines liant la pénicilline (PLP), situées sur la surface de la membrane cytoplasmique. La membrane externe représente la seule barrière de Perméabilité importante pour la pénétration des  $\beta$ -lactamines. Les  $\beta$ -lactamines empruntent Principalement la voie des porines pour franchir la membrane externe.

Les PLP sont des enzymes impliquées dans la synthèse du Peptidoglycane. Généralement, seules les glycosyltransférases et les transpeptidases sont Sensibles à l'action des  $\beta$ -lactamines (COURVALIN *et al.*, 2012).

Les  $\beta$ -lactamines présentent une analogie structurale entre le noyau  $\beta$ -lactame et le dipeptide terminal D-alanine-D-alanine du pentapeptide constitutif du peptidoglycane. Leur reconnaissance par les transpeptidases et les carboxypeptidases (PLP) aboutit à la fixation du cycle  $\beta$ -lactame sur le site actif de ces enzymes cibles, qui comporte en général une sérine. Cette fixation entraîne une ouverture du cycle  $\beta$ -lactame par rupture de la liaison amide et une acylation du site actif sérine avec formation d'un complexe pénicilloyl-enzyme covalent qui aboutit à l'inactivation du site actif de l'enzyme, provoquant une inhibition de la synthèse du peptidoglycane et l'arrêt de la croissance bactérienne (LIVERMORE, 1995).

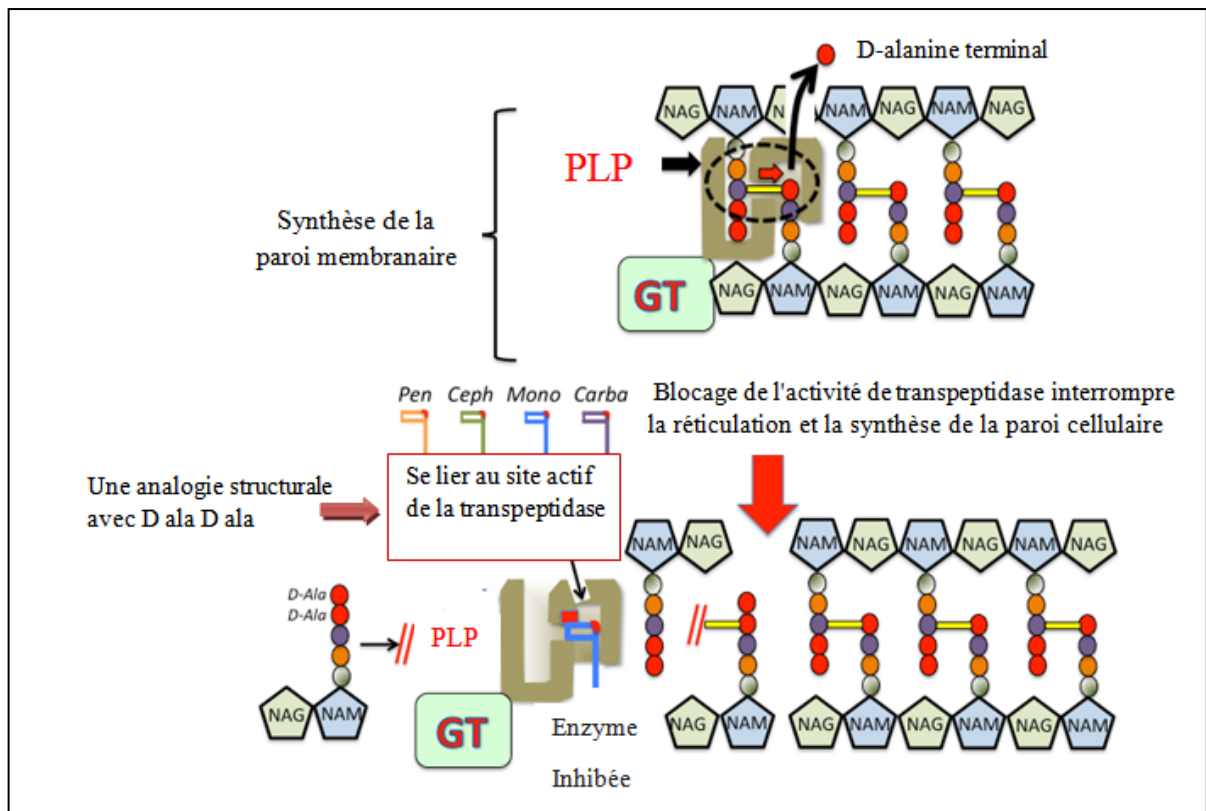


Figure 11 : Mécanisme d'action des  $\beta$  lactamines (KOHANSKI *et al.*, 2007).

#### 4. Résistance bactérienne :

La résistance bactérienne se définit comme la capacité de continuer à croître ou à survivre en présence de l'antibiotique. Les conditions d'activité d'un antibiotique sont de posséder une cible spécifique, de demeurer sous forme active, d'accéder à la cible et d'interagir efficacement avec elle en la désactivant. Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise (DIALLO, 2013).

#### 5. Types de résistances :

##### 5.1. Résistance naturelle :

Elle fait partie du patrimoine génétique de l'espèce et est donc présente chez toutes les souches d'une même espèce. Héritairement, elle se transmet à la descendance de manière verticale et reste stable en fonction du temps (DEMORE *et al.*, 2012).

Par exemple : *Klebsiella pneumoniae*, grâce à sa pénicillinase naturelle de bas niveau, est naturellement résistante aux aminopénicillines (Par exemple : l'amoxicilline) et aux

carboxypénicillines (Par exemple : la ticarcilline) par sécrétion de pénicillinases (**CAVALLO et al., 2004**).

## **5.2. Résistance acquise :**

La résistance acquise, de support chromosomique ou plasmidique, fait suite à une mutation ou une acquisition de gènes conférant la résistance. Cette résistance est transmissible aux descendances (verticale) ou à d'autres bactéries de la même espèce ou d'espèces différentes (transmission horizontale). Les entérobactéries présentent fréquemment des résistances acquises aux antibiotiques à large spectre. (**BRAHIMI, 2013**).

## **6. Support de la résistance :**

La résistance acquise est due à une modification génétique qui peut être de 2 types, soit chromosomique ou extra-chromosomique.

### **6.1 Résistance chromosomique :**

Elle résulte d'une mutation-génétique affectant un gène de structure ou de régulation. Ce phénomène est rare (10 à 20%), il se fait de manière spontanée et reste stable dans le temps, sa transmission se fait de manière verticale expliquant qu'il soit spécifique d'un antibiotique ou d'une famille(**FOSSEPREZ,2013**).

### **6.2. Résistance extra-chromosomique :**

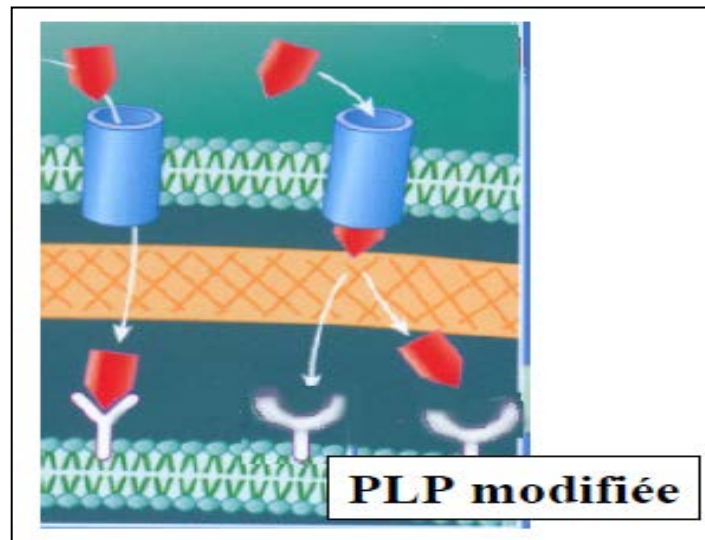
Principalement due à la présence de trois types d'éléments extra-chromosomiques portant des gènes de résistance : les plasmides, les transposons et les intégrons (**DIALLO, 2013**). Ce type de résistance est transmissible de la façon horizontale entre des bactéries phylo-géniquement éloignées selon trois modes de transmission, qui sont : la conjugaison, la transduction et la transformation (**KOUJANE, 2011**).

## **7. Mécanismes de la résistance bactérienne aux $\beta$ lactamines :** Quatre grands mécanismes permettent aux bactéries de résister face à un antibiotique.

### **7.1. Modification de la cible d'antibiotique :**

Les cibles des  $\beta$ -lactamines sont des protéines enzymatiques insérées dans la surface externe de la membrane cytoplasmique dénommées protéine liant la pénicilline (PLP). Les PLPs

interviennent dans la synthèse et le remodelage du peptidoglycane constituant principal de la paroi bactérienne. Les PLP sont des cibles physiologiques des antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines. Des modifications des PLP par mutation ont été impliquées dans la résistance aux  $\beta$ -lactamines. (BOUGUENOUN, 2017). Chez les bactéries à Gram négatif, l'altération des PLP n'a été que rarement observée : elle a été mise en évidence chez *Serratia maercescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Niesseriagonorrhoeae* et *Haemophilus influenzae* (COLLIGNON et al., 2007).



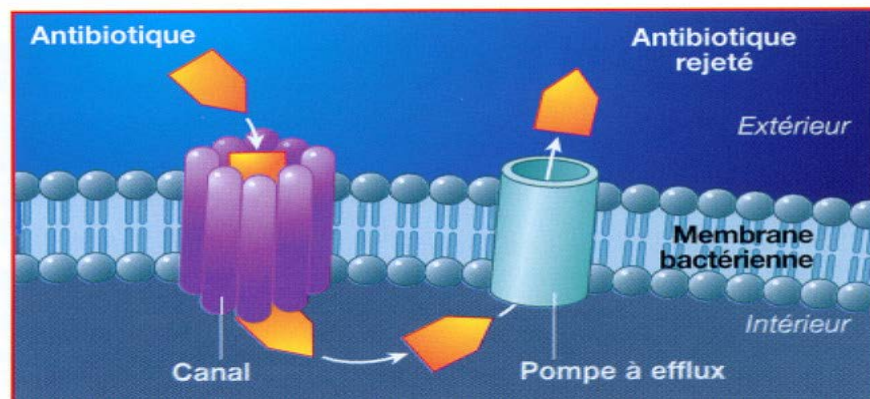
**Figure 12** : Mécanisme de la modification de la cible de l'antibiotique (ARCHAMBAUD, 2009).

## 7.2. Diminution de la perméabilité :

Ce mode de résistance se rencontre chez les bactéries à Gram négatif du fait de leur enveloppe externe plus complexe. En effet, l'antibiotique ne peut pénétrer au niveau intracellulaire que par l'intermédiaire de canaux protéiques transmembranaires, les porines. Ce phénomène passif laisse traverser plus facilement les molécules de petites tailles, neutres et hydrophiles. Les modifications de ces porines par 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 *Escherichia coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêta lactaminees, aux tétracyclines et au chloramphénicol (FOSSEPREZ, 2013).

### 7.3. Efflux actif :

Médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques. 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). Les systèmes d'efflux ont été décrits pour la première fois chez les bactéries à Gram négatif comme *E. coli* (HOCQUET *et al.*, 2004).



**Figure 13** : Mécanismes de la résistance bactérienne aux  $\beta$  lactamines par efflux actif (ARCHAMBAUD, 2009).

### 7.4. Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

Un des mécanismes de résistance les plus répandus chez les entérobactéries repose sur la production d'enzymes dont l'origine peut être intrinsèque (gène chromosomique appartenant à l'espèce) ou extrinsèque (gènes transmis par des plasmides ou des transposons).

Les bêta lactamases responsables de l'hydrolyse des bêta lactamines par ouverture du cycle bêta lactame (BEATRICE, 2018).

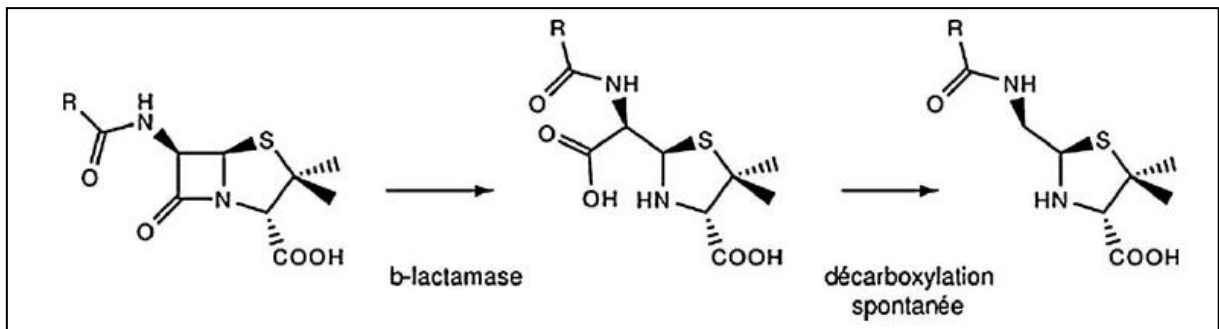
## Chapitre 03 : $\beta$ -lactamases

### 1. Définition :

Les  $\beta$ -lactamases sont des enzymes produites par certaines bactéries et sont responsables de leurs résistances aux  $\beta$ -lactamines comme les pénicillines, les céphalosporines, les Céphamycines, et les Carbapénèmes. Ce sont des enzymes dont l'action hydrolytique sur les  $\beta$  lactamines conduit à leur inactivation. Le mécanisme le plus répandu de la résistance bactérienne aux  $\beta$ -lactamine est donc la production des  $\beta$ -lactamases (**LIVERMORE, 1995**).

### 2. Mode d'action :

Les  $\beta$  lactamases sont des enzymes d'inactivation des  $\beta$ -lactamines. Ils sont capables d'ouvrir le cycle  $\beta$ -lactame en créant un intermédiaire acyl-enzyme instable donc perte d'un groupement carboxyle qui est responsable de l'inactivation de l'antibiotique (**LIVERMOR, 2003**).



**Figure 14** : Mécanisme d'hydrolyse d'une  $\beta$ -lactamine par une  $\beta$ -lactamase (**LIVERMOR, 2003**).

### 3. classification :

Les  $\beta$  -lactamases sont des enzymes d'inactivation, d'une extrême diversité, de type sérine ou métallo-enzymes. Deux types de classification sont principalement utilisés pour ces enzymes : Classification d'Amblar et Classification de Bush, Jacoby et Medeiros (**CARDINALE et al, 2001**).

#### 3.1. La classification d'Amblar :

Cette classification reflète la structure fondamentale de l'enzyme, elle est basée sur la séquence peptidique du site enzymatique ou sur la séquence totale du gène codant la  $\beta$  lactamase. Cette classification est dérivée en quatre classes : classes A, B, C (sérine enzymes) et D (métallo-enzymes) (**AMBLER, 1980**).

**Tableau 02 : Classification simplifiée des  $\beta$ -lactamases (AMBLER et al, 19980) :**

Classe	Enzyme	substrats préférentiels	Exemple
	Pénicillinase	Pén +/- Céph	TEM-1, TEM-2, SHV-1
A	$\beta$ -lactamase à spectre étendu CTX-M, PER, VEB (BLSE)	Pén, Céph, Mono	Dérivés de TEM/SHV
	Pénicillinase résistante aux Inhibiteurs Carbapénémas	Pén Pén, Céph, Mono, Carb	TRI KPC
B	Métallo- $\beta$ -lactamases	Tous (sauf Mono)	IMP, VIM, NDM-1
C	Céphalosporinase	Céph	<i>AmpC</i> , CMY
D	Oxacillinase	Pén (oxacilline) +/-Céph ou C	OXA (notamment OXA-48 chez Ent ; OXA-23, -24, -58 chez Ab)

**Pén** : pénicillines ; **Céph** : céphalosporines ; **Mono** : monobactames ; **Carb** : carbapénèmes ;  
**Ent** : entérobactéries ; **Ab** : *Acinetobacter baumannii*.

### 3.2. La classification fonctionnelle de Bush-Jacoby-Medeiros :

Cette classification est plus complète et plus récente, elle reflète le spectre d'activité de l'enzyme et répartit les  $\beta$ -lactamases en quatre groupes en fonction de leur profil de substrat (pénicilline, Oxacilline, Carbénicilline, Céphaloridine, C3G et imipénème) et d'inhibition par acide Clavulanique et EDTA (BUSH et al, 1995).

## 4. $\beta$ -lactamases à spectre étendu

### 4.1. Définition

Les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes qui hydrolysent l'ensemble des pénicillines et les céphalosporines à l'exception des Céphamycines (Céfotixine, Céfotétan), du Moxalactam et des Carbapénèmes. Les premières BLSE dérivait des pénicillinases de type TEM ou SHV-1 par mutation ponctuelle. Plus récemment, de nouvelles BLSE non dérivées des pénicillinases ont émergé : les Céfotaximases de type CTX-M et les Céfotaxidimases de type PER, GES et VEB (DOIT et al., 2010).

## 4.2. Principaux types de BLSE :

### 4.2.1. BLSE de type TEM (Temoneira-Nom du patient) :

L'enzyme parentale TEM-1 est la première  $\beta$ -lactamase plasmidique décrite chez les bactéries à Gram négative en 1965 (DATTA et KONTOMICHALOU, 1965).

Elle était produite par une souche d'*E.coli* isolée chez une patiente nommée Temoneira en Grèce, d'où la nomination. Les substitutions d'acides aminés qui ont eu lieu au niveau de l'enzyme TEM sont localisées à des positions limitées. Les substitutions d'acides aminés aux positions 104, 164, 238 ou 240 produisent un phénotype BLSE mais les BLSE de type TEM avec un plus large spectre possèdent plus d'une substitution.

A noter que certains mutants de TEM-1 ne sont pas des BLSE mais présentent une diminution de sensibilité aux inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique par exemple). On parlera alors de  $\beta$ -lactamases TEM résistantes aux inhibiteurs (TRI) (BRADFORD, 2001).

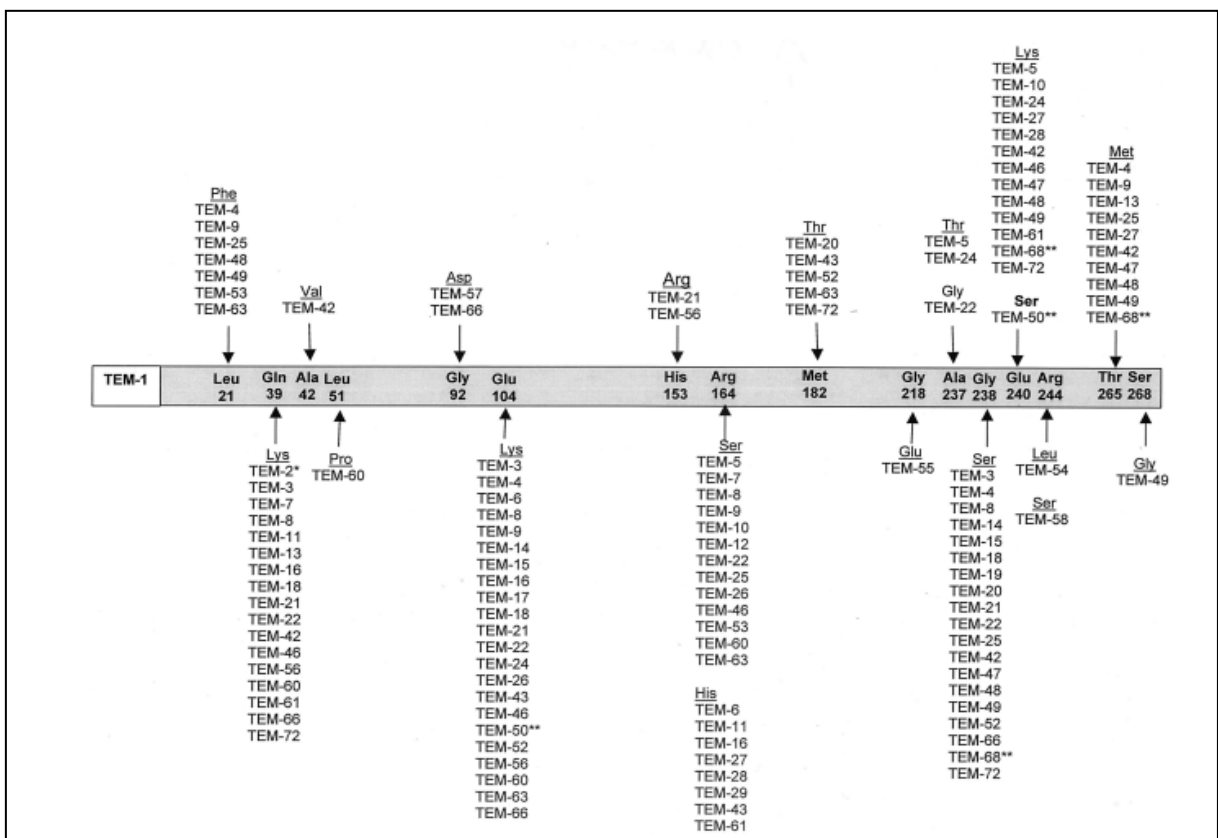


Figure 15 : Les BLSE dérivées de TEM (AMBLER et al,1991).

#### 4.2.2. BLSE de type SHV (Sulphydryl variable) :

Les BLSE de type SHV ont été détectées parmi de nombreuses entérobactéries notamment *K. pneumoniae* (BRADFORD, 2001). Comme les dérivés de TEM, les mutations dans SHV-1 (68% d'identité avec TEM-1) ont lieu classiquement au niveau de quelques positions notamment 238 et 240 (GNIADKOWSKI, 2008).

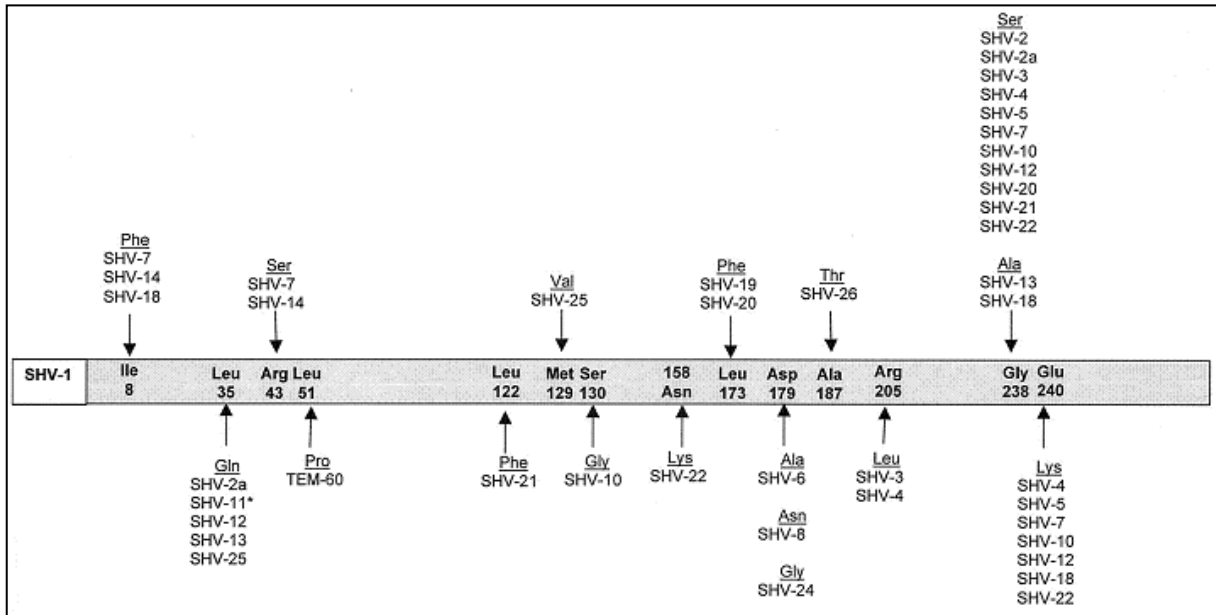


Figure 16 : Les BLSE dérivées de SHV (BRADFORD et al, 1999).

#### 4.2.3. BLSE de type OXA (Oxacilline) :

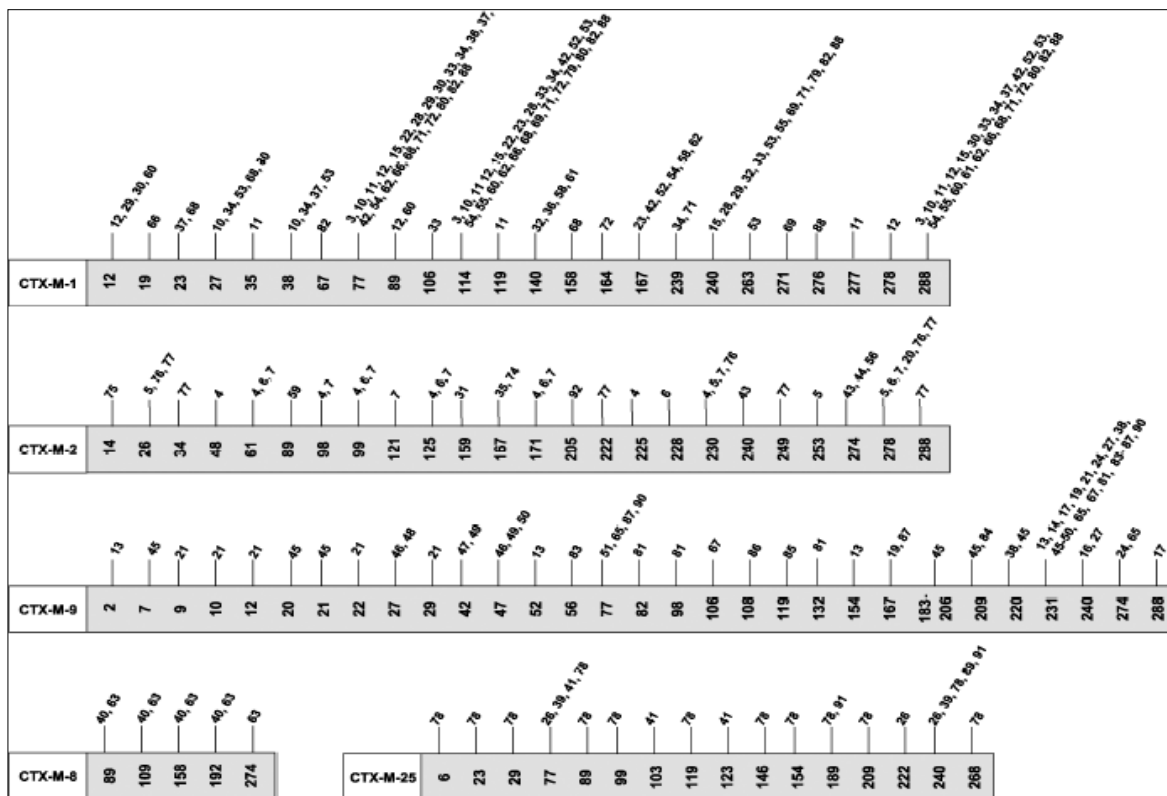
Les Oxacillines sont des Carbapénémases de classe D, La majorité des OXA n'hydrolysent pas les céphalosporines de large spectre. Certaines sont inhibées, in vitro, par les ions Cl<sup>-</sup> (BARRIAL et SCOTET, 2006)

Il existe neuf sous-groupes de Carbapénémases de classe D, basés sur l'homologie des séquences protéiques (OXA-23, OXA- 51, OXA-24, OXA-58, OXA-48, OXA-55, OXA-50, OXA-62 et OXA-60), mais leur spectre d'activité est assez proche : hydrolyse des Aminopénicillines, des Carboxypénicillines, partiellement de l'Imipénème malgré une grande affinité de l'enzyme pour ce substrat, et hydrolyse quasi-inexistante des céphalosporines. Leur activité n'est pas inhibée par l'acide Clavulanique ou le Tazobactam. En l'absence d'autres mécanismes de résistance (autres β-lactamases de type BLSE ou Céphalosporinase plasmidique, perte de porines ou pompes à efflux), elles n'entraînent qu'une légère diminution de la sensibilité aux Carbapénèmes (WALTHER-RASMUSSEN, 2006).

Les entérobactéries peuvent exprimer une Carbapénémase particulière, OXA-48 cette  $\beta$ -lactamase de classe D hydrolyse les Carbapénèmes plus faiblement que KPC et n'hydrolyse pas les Céphalosporines de troisième génération (CARRER *et al.*, 2010 ; UZUN *et al.*, 2008).

#### **4.2.4. BLSE de Type CTX-M :**

Les BLSE de type CTX-M ont été décrites initialement en 1986 au Japon, Allemagne et France en 1989 (CTXM-1) et ont depuis lors disséminé largement dans le monde Au niveau structural, les CTX-M ne sont pas proches des  $\beta$ -lactamases de type TEM ou SHV (< 40 % d'identité), Au niveau de leur spectre d'activité, elles hydrolysent préférentiellement le Céfotaxime, d'où leur nom de Céfotaximases (BONNET, 2004). A ce jour, de nombreux variants de CTX-M ont été décrits (>50), et sont classés en 6 groupes phylogénétiques distincts : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45 (D'ANDREA *et al.*, 2008) À la différence des types précédents, les CTX-M confèrent une résistance marquée au Céfotaxime (origine de son nom) et au Céfépime. En revanche, l'inactivation de la Céfotaxime est plus limitée, à l'exception d'enzymes récemment décrites (CTX-M-15, CTXM- 16, CTX-M-27) qui ont une forte capacité hydrolytique pour la Céfotaxime. Les CTX-M sont plus fortement inhibées par le Tazobactam que par l'acide Clavulanique. Ces BLSE ont été retrouvées majoritairement chez *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*. Leur émergence parmi d'autres espèces et genres d'entérobactéries est rapide (BONNET, 2004 ; WALTHER-RASMUSSEN, 2004).



**Figure 17** : Division des bêta-lactamases de type CTX-M en sous-groupes et positions des substitutions d'acides aminés (RUBTSOVA *et al.*, 2010).

## 5. facteurs de risques de portage des entérobactéries productrices des BLSE et les patients à prélever :

Selon la littérature et les différentes études microbiologiques portant sur la prévalence, le portage et l'acquisition des EBLSE, différents facteurs peuvent être incriminés dans la prévalence du portage des EBLSE, dont les principaux sont :

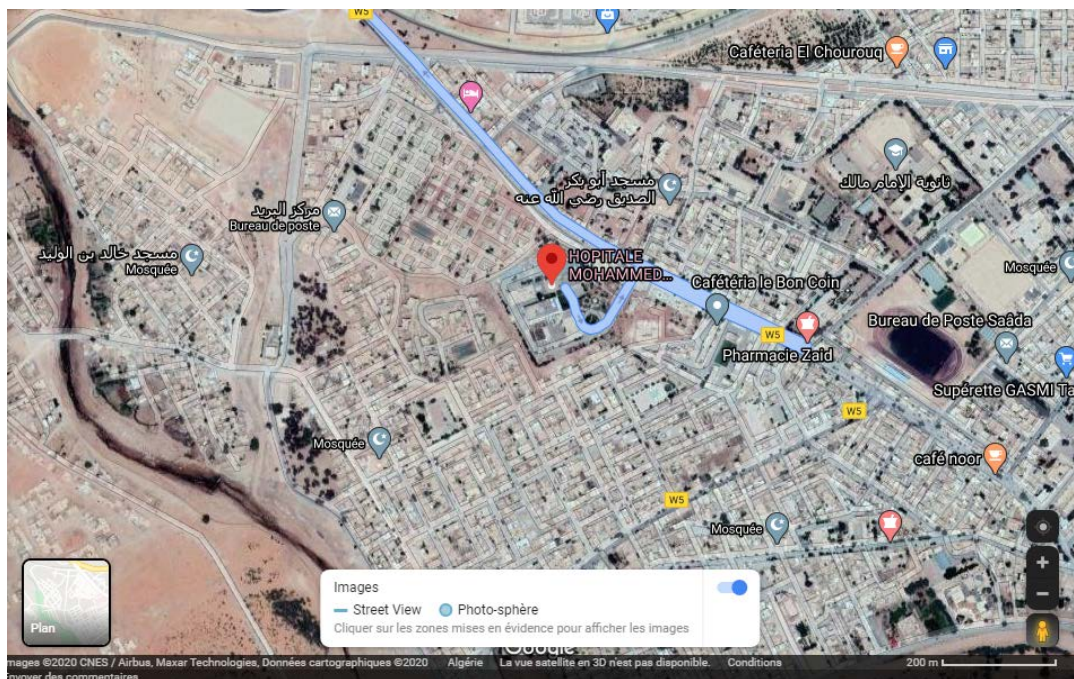
- Un antécédent récent d'antibiothérapie longue ou utilisant plusieurs antibiotiques.
  - Une antibiothérapie utilisant une céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération.
  - Une hospitalisation dans les services à haut risque d'acquisition d'EBLSE (service de la réanimation, oncohématologie, EPAHD, etc.).
  - Un voyage récent dans une zone connue à forte prévalence d'EBLSE.
  - Un transfert inter-service dans le même établissement hospitalier.
  - Etre en contact d'une personne connue porteuse d'EBLSE.
  - Exposition a des dispositifs invasifs (cathéters veineux, tube endotrachéal ...)
- (AIT-KACI, 2019).

*Deuxième partie: Matériel  
et Méthodes*

## 1. Lieu et Période d'étude :

Notre étude a été faite au niveau de l'hôpital Mohammed Boudiaf d'Ain Sefra wilaya de Naama, construit en 1987, comprenant 20 services qui sont : UMC (Urgence Médicaux Chirurgicale), Pédiatre, Bloc Opératoire, Réanimation, Hémodialyse, Radiologie, Médecine Légale, Laboratoire, Maternités, Chirurgie Générale, Traumatologie Orthopédie, Ophtalmologie, Chirurgie Infantile, Médecine Interne, Néphrologie, Cardiologie, Maladie Infectieuse, Pneumologie, Oncologie, Rééducation.

La partie pratique de cette étude a été réalisée durant une période de deux mois à partir de 15 Janvier jusqu'à 15 mars, au niveau de laboratoire microbiologie de centre universitaire SALHI AHMED de -Naama-.



**Figure 18 :** Lieu des prélèvements Hôpital Mohammed Boudiaf Ain Sefra -Google Maps 2020-.

## 2. Prélèvements et Patients :

Notre recherche a été réalisée sur l'ensemble des patients en séjours à partir trois services :

- Réanimation.
- Pédiatre.
- Maternités.

Nos souches ont été isolées essentiellement à partir des : selles, cathéters, pertes vaginale et les plaies infectées.

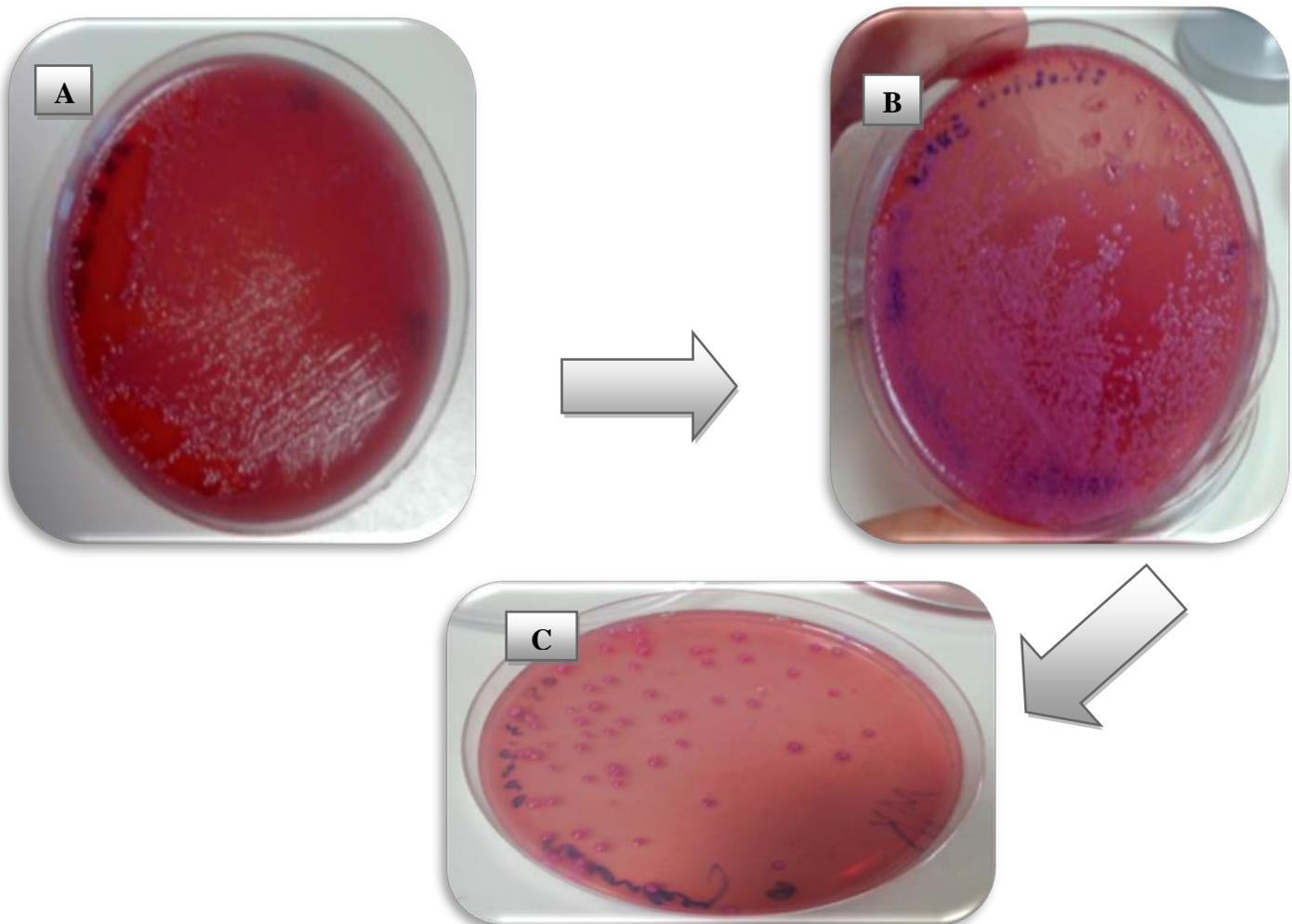
Les prélèvements ont été faits par un écouvillonnage, cette technique consiste de prélever à l'aide d'un écouvillon stérile et humidifié par l'eau distillé stérile au niveau de site infection. Tous les prélèvements obtenus acheminer rapidement au laboratoire pour être analyser.

### 3. Ensemencement :

Le déchargement des écouvillons de chaque prélèvement se fait par l'ensemencement sur des boites de gélose Mac-conkey qui est un milieu sélectif pour les entérobactéries. Les boites ensemencées sont incubées à 37°C pendant 18 à 24H.

### 4. Isolement et Purification :

Après l'incubation on applique une séries d'isolement successifs à fin d'obtenir des souches pures.



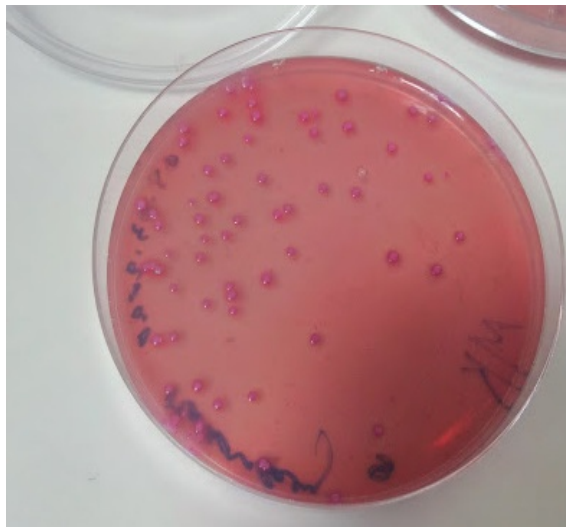
**Photo 01** : Isolement et purification d'*E. coli* (A, B, C).

## **5. Identification des entérobactéries :**

Dans cette étude, on s'intéresse à l'identification des entérobactéries par :

### **5.1. Identification macroscopique :**

L'identification macroscopique repose sur l'observation à l'œil nu, elle permet d'observer l'aspect des colonies (lisse, rugueux, contour régulier ou irrégulier), l'odeur, la couleur, la forme (bombé ou plat) et le virage de milieu sélectif de culture utilisé. (**Voire le figure 02**).



**Photo 02 :** souche *d'E. coli* sur Mac-conkey roses, rondes, semis bombés et lisse.

### **5.2. Identification microscopique :**

Cette étape consiste à la recherche de la morphologie et le Gram des bactéries par la coloration de Gram.

#### **5.2.1. Coloration de Gram**

##### **❖ Principe :**

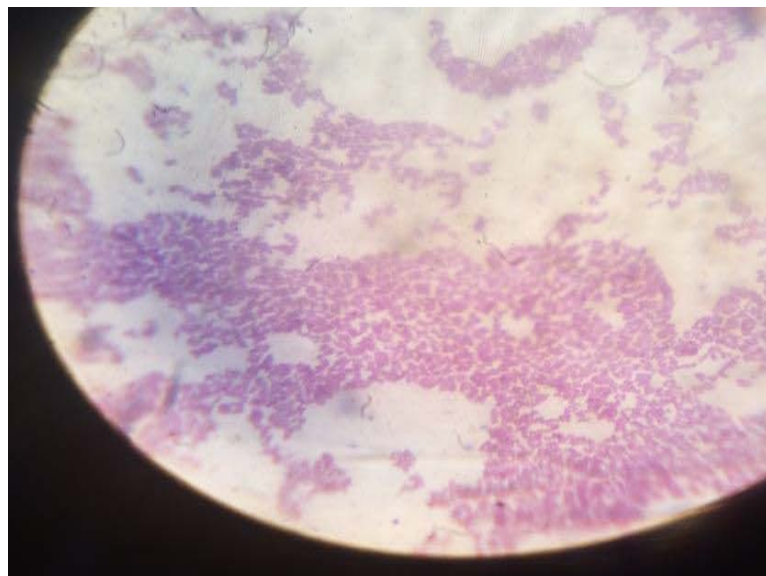
Cette technique repose sur une différence fondamentale entre les compositions chimiques des parois des bactéries Gram positif et négatif, elle permet de mettre en évidence la taille, la forme et le mode de regroupement des bactéries (**DELARRAS, 2007**).

❖ **Technique :**

- 1- Préparation du frotti.
- 2- Coloration par Violet de gentiane (cristal de violet), laisse 1 minute après on rince avec l'eau distillé.
- 3- Fixation par Lugole pendant 1 minute puis on rince avec l'eau distillé.
- 4- Décoloration par Alcool pendant 30 s après rinçages par l'eau distillé.
- 5- Recoloration par Fushine (Safranine) 1 minute après on a rincé avec l'eau distillé.

❖ **Lecture :**

Observation à l'objectif  $\times 100$  à l'aide de l'huile à émersion, si on observe une couleur rose donc les bactéries à Gram négatif et si la couleur est violette les bactéries à Gram positif.



**Photo 03 :** Observation microscopique de bacilles à Gram négatif ( $G \times 100$ ).

### **5.3. Identification biochimique :**

L'identification biochimique permet d'identifier les bactéries selon leurs caractères biochimiques et métaboliques.

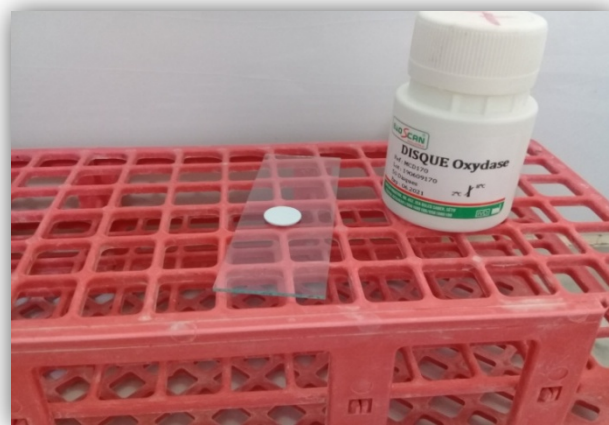
#### **5.3.1. Test oxydase**

❖ **Principe :**

C'est un test permet la détection de l'enzyme oxydase qui considère comme critère d'identification des bactéries à Gram négatif (BENSOUILAH et *al.*, 2012).

❖ **Technique :**

A l'aide d'une pince flambée on met le disque de N diméthyle paraphénylène diamine oxalate sur une lame stérile puis avec une pipette pasteur on prélève une colonie et la dépose sur le disque tous doucement.



**Photo 04 :** Test oxydase.

❖ **Lecture :**

- ✓ Test positive : la présence d'une tache rose violet sur le disque c'est à dire la bactérie possède enzyme oxydase on appelle oxydase (+).
- ✓ Test négative : Il n'y a pas une tache rose violet donc oxydase (-).

### 5.3.2. Mannitol mobilité :

❖ **Principe :**

C'est un milieu de culture utilisé pour l'identification des entérobactéries, il permet d'avoir le métabolisme de la bactérie aussi leur mobilité (FRENRY *et al.*, 2007).

❖ **Technique :**

Avec une pipette pasteur on prélève une colonie bactérienne et on l'a ensemencé par pique centrale jusqu'au fond de tube, la lecture se fait après incubation à 37°C pendant 24h.

❖ **Lecture :**

- ✓ S'il y a un virage de milieu en rouge au jaune donc il y a une fermentation de mannitol.
- ✓ La présence des bactéries au-delà l'axe de pique centrale c'est-à-dire les bactéries sont mobiles, mais s'il y a une présence uniquement au niveau de la pique c'est-à-dire les bactéries sont immobiles.



**Photo 05 :** Test mannitol mobilité positif

### 5.3.3. Galerie Api 20 E :

❖ **Principe :**

La galerie présente une version d'un système miniaturisé et standardisé pour l'identification des entérobactéries et d'autre bactéries à Gram négatif, elle présente se forme d'une série des tests (20 tests) et chacun correspondant à un test biochimique spécifique (JOFFIN *et LEYRAL*, 2006).

❖ **Technique :**

**1-Préparation inoculum :** A partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 h, on prélève à l'aide d'une pipette pasteur une colonie et on la met dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile pour l'obtention d'une suspension bactérienne de 0,5 McFarland après on va homogénéiser la suspension par l'utilisation d'un vortex.

**2- Préparation de la galerie :** Créer une atmosphère humide dans la plaque par le remplissage d'environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles en suite on place la galerie dans la boîte d'incubation.

**3-Ensemencement :** A l'aide d'une pipette pasteur on remplit les tubes des tests non soulignés par la suspension et les cupules par les réactifs, remplissant les tubes LDC, ADH, URE, H<sub>2</sub>S et ODC par la suspension et les cupules par l'huile de paraffine ou huile de vaseline pour créer l'anaérobiose, concernant les tests encadrés on remplit les tubes et les cupules par la suspension.

Refermer la boîte et on la met dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.



**Photo 06 :** Galerie Api 20 E.

❖ **Lecture :**

Se fait selon catalogue analytique de la galerie utilisée, certains tests nécessitant l'addition des réactifs (VP, TDA, RM, Nitrate) et on utilise le tableau d'identification pour identifier la souche exacte.



**Photo 07** : Réactifs de Galerie Api 20E.

## **6. Antibiogramme**

### **❖ Principe :**

Nous avons utilisé l'antibiogramme pour tester l'activité des antibiotiques. Ces antibiotiques ont été choisis à partir de la liste standard et complémentaire des antibiotiques qui ont un effet sur les Entérobactéries selon la CA-SFM en 2019.

L'antibiogramme est réalisé suivant la technique de diffusion en milieu gélosé et selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2019).

### **❖ Technique :**

A partir d'une culture visible et jeune on va réaliser une suspension bactérienne en solution salée. Pour ce faire on prélève plusieurs colonies de même morphologie afin d'éviter de sélectionner un variant atypique. Puis on met ces colonies en suspension en milieu salé avec un écouvillon. Cette méthode convient pour toutes les bactéries y compris à croissance lente. La suspension bactérienne est standardisée par un spectrophotomètre pour ajuster la densité bactérienne au tube 0,5 McFarland, on ajoute soit la solution salée soit les bactéries. Après on ensemence la suspension sur gélose MH par la méthode d'écouvillonnage et à l'aide d'une pince on dépose les disques des antibiotiques.

On incube les boîtes à 37°C pendant 24 à 48h et on passe au lecteur des résultats.



**Photo 08 :** Antibiogramme de EBLSE vis-à-vis 6 antibiotiques.

❖ **Lecteur :**

L'antibiogramme permet de classer la souche comme sensible (S), intermédiaire (I), ou résistante (R) à chaque molécule, selon les diamètres critiques, après incubation à  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ , pendant  $20\pm 4$  heures

**Tableau 03** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions pour les Entérobactéries (CA SFM, 2019).

Les familles d'antibiotiques	Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique mm	
			S	R
B lactamines	Amoxicilline	20 µg	≥ 19	≤ 19
	Amoxicilline +Acide clavulanique	20+10 µg	≥ 18	≤ 13
	Ticarcilline-acide clavulanique	85 µg	≥ 23	≤ 20
	Imipénème	10 µg	≥ 22	≤ 16
	Céphalothin	30 µg	≥ 14	≤ 18
	Céfotaxime	30 µg	≥ 26	≤ 22
	Céfepime	30 µg	≥ 27	≤ 21
	Céftazidime	30 µg	≥ 26	≤ 19
	Aztréoname	30 µg	≥ 26	≤ 21
Aminoside	Amikacine	30 µg	≥ 16	≤ 13
Quinolone Classique	Acide nalidixique	30 µg	≥ 14	≤ 14
Fluoroquinolone	Ciprofloxacine	5 µg	≥ 26	≤ 24
Trimétoprime	Cotrimoxazole	25 µg	≥ 14	≤ 11
Fosfomycine	Fosfomycine	50 µg	≥ 16	≤ 12

## **7. Tests de détection de BLSE**

Les BLSE sont des bêta-lactamases plasmidiques de type **SHV**, **TEM**, **OXA** et **CTX-M** capables d'inactiver les  $\beta$ -lactamines en particulier les C3G mais sensibles à l'acide Clavulanique. Les tests de recherche de BLSE que nous avons utilisés sont : le test de synergie et un test complémentaire qui est le test de double disque. La production de BLSE est détectée sur gélose Mueller Hinton.

### **7.1. Test Synergie**

#### **❖ Principe :**

Le test de synergie est un test permettant de confirmer la présence de BLSE (**CHAMPS, 1989**). Ils reposent sur la mise en évidence d'une synergie entre le Clavulanate et des C3/4G, le Céfotaxime, la Ceftazidime et le Céfépime c'est l'un des premiers tests à être décrit et le plus utilisé. Ce test possède plusieurs variantes et est basé sur la mise en évidence d'une restauration de l'activité des Céphalosporines de troisième génération ou de l'Aztréonam en présence d'un inhibiteur enzymatique. La distance entre les disques centre à centre est comprise 25 mm chez certaines espèces telles que *Porteus mirabilis*, *P vulgaris*, *P penneri*, *Morgannella morganii*, *Providencia stuartii* et *Rettgeri*. Les BLSE s'expriment faiblement. Dans ces cas, le test de synergie est optimisé en placent les disques à une distance de 40 – 45 mm au lieu de 25 mm (**CA-SFM, 2007**).

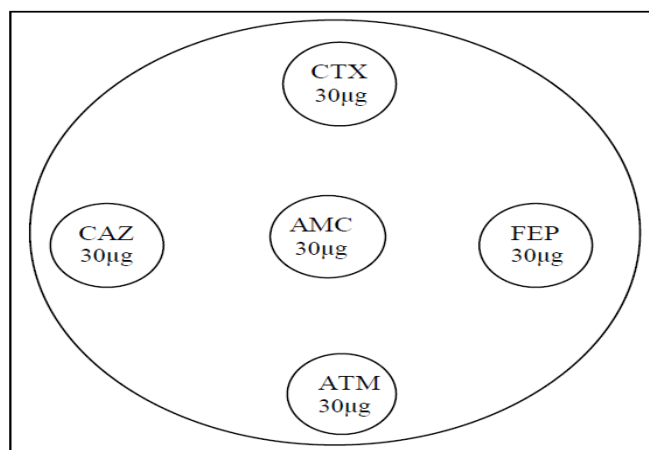
Le test de synergie peut être insensible pour plusieurs raisons :

- La distance entre les disques.
- L'inaptitude des inhibiteurs à inhiber toutes les  $\beta$ -lactamases (Céphamycinases qui ne sont pas inhibées par exemple).
- L'inaptitude du test à détecter la présence des BLSE (montrer l'image de synergie « tire-bouchon » chez les souches productrices des Céphalosporinases chromosomiques) (**JARLIER et al., 1988**).

Malgré ces défaillances, c'est une méthode assez utilisée en routine car elle ne nécessite pas beaucoup de matériel et est de réalisation facile.

**❖ Technique :**

A l'aide d'une suspension de 0,5 Mac Farland préparé selon CA SFM on ensemence le milieu Muller-Hinton. Sur ce milieu on dépose 5 disques d'antibiotiques : l'un est composé de l'Amoxicilline et acide Clavulanique (respectivement 20 et 10 µg), Céfotaxime (30 µg), Céfotaxime (30 µg), Céfépime (30 µg) et l'Aztréonam (30 µg). La distance entre la bordure des disques est préalablement déterminée pour optimaliser la sensibilité du test.



**Figure 19 :** Disposition du disque d'antibiotiques pour le test de synergie.

**❖ Lecteur :**

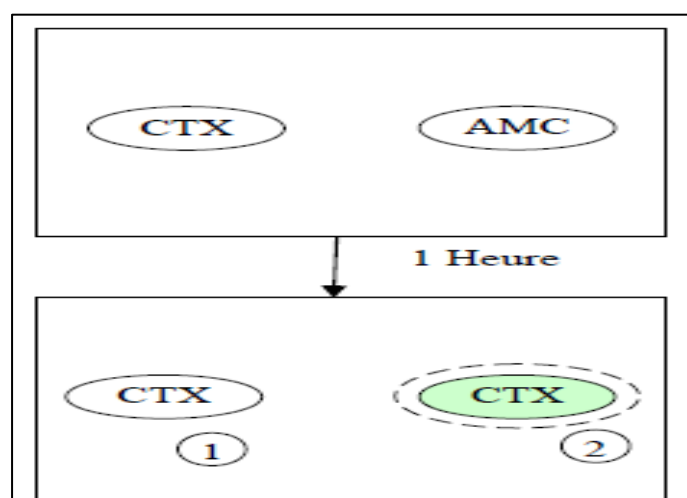
Un résultat positif donne une image caractéristique en « bouchon de Champagne » est basé sur l'inhibition des BLSE par l'acide Clavulanique, et par conséquent l'augmentation de l'activité des Céphalosporines de troisième et quatrième génération est décrété négatif s'il n'y a pas d'augmentation du diamètre d'inhibition (JARLIER *et al.*, 1988).

**6.3. Méthode des disques combinés : double disque.****❖ Principe :**

La méthode des disques combinés consiste à mesurer la zone d'inhibition autour d'un disque de céphalosporine et le diamètre d'un disque de la même céphalosporine additionné d'acide Clavulanique (CARTER *et al.*, 2000).

❖ **Technique :**

A partir d'une suspension bactérienne d'une opacité égale à 0,5 MC Farland à été préparée a partir d'une culture de 18 h, on ensemence une gélose Mueller-Hinton selon la technique de l'antibiogramme. Après on dépose deux disques d'antibiotique l'un contenant l'AMC, l'autre une céphalosporine de troisième génération (CTX) la distance entre les disques est compris 25 mm (**voir figure 20**). La diffusion était faite à la température ambiante du laboratoire pendant une heure, puis le disque l'AMC est remplacé par un disque contenant la même céphalosporine de troisième génération (**ABID et al., 2007**).



**Figure 20** : Schéma de détection des BLSE par le test espagnol (**RAHAL, 2005**).

❖ **Lecteur :**

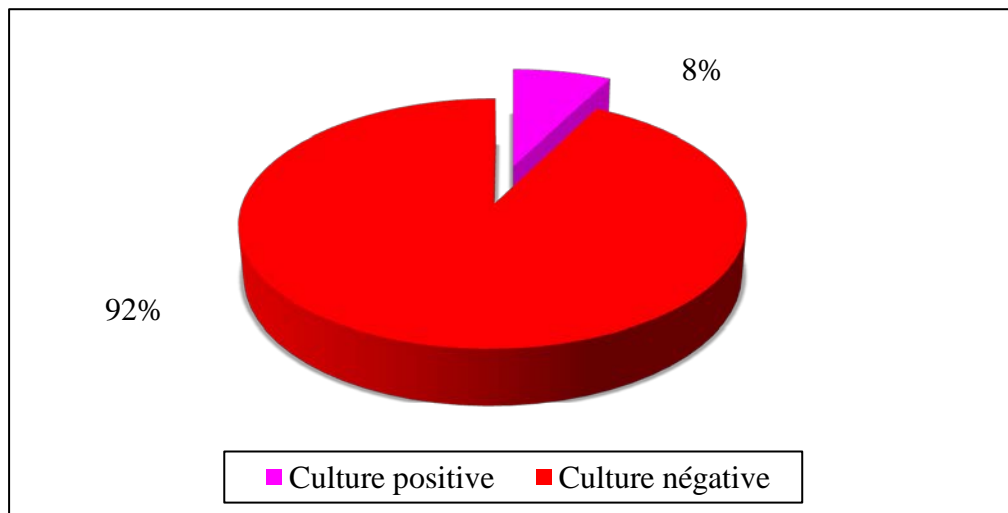
Si il ya plus de 5 mm de différence entre les deux zones d'inhibition cela démontre la production d'une BLSE (**CARTER et al., 2000**).

*Troisième partie: Résultats  
et Discussion*

## I. Résultats

### 1. Prélèvements :

Au cours de notre étude, nous avons analysées 13 prélèvements, ces prélèvements ont été prélevés à partir de différents sites. Après incubation, 92% des prélèvements donnent des cultures bactériennes (prélèvement + ) et les 8% des prélèvements qu'ils restent ne contiennent pas des germes (prélèvement - ) (**voire la Figure 21**).



**Figure 21** : Répartition des prélèvements positifs et négatifs

### 2. Recherche sur les EBLSE :

Dans les 12 prélèvements positifs, un total de 17 souches d'Entérobactéries ont été isolées, La répartition des souches isolées montre une diversité importante avec prédominance des entérobactéries non productrices de  $\beta$  lactamases avec un pourcentage de 71% et seulement 5 souches productrices de  $\beta$  lactamase à spectre étendu (29%) (**voire la Figure 22**).

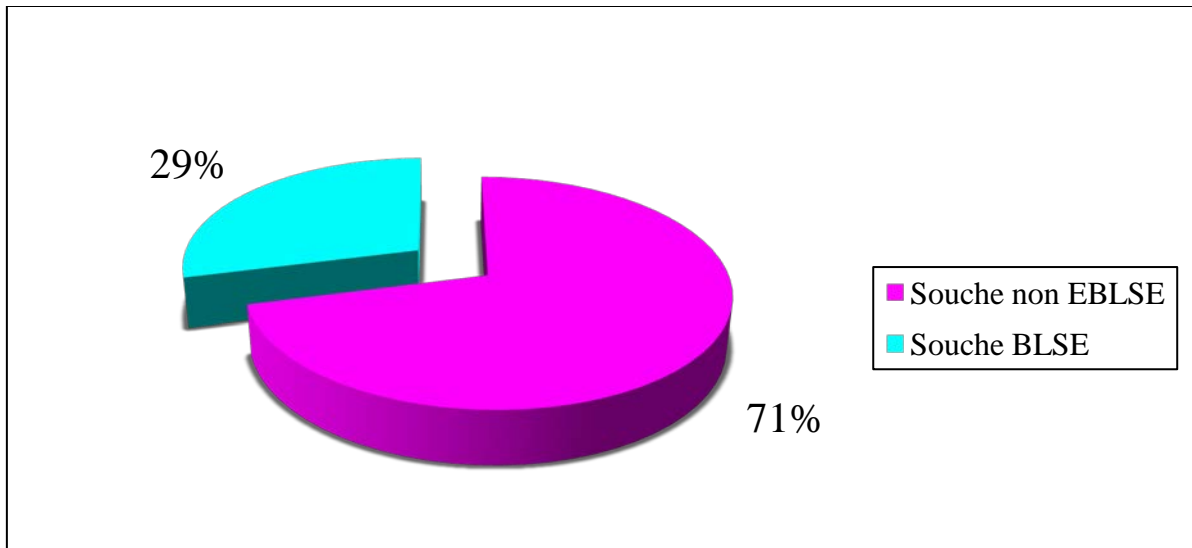


Figure 22 : Répartition des souches des entérobactéries.

### 3. Identification bactériennes :

D'après le résultat ci-dessous, *E. coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux de 60% et le reste sont des souches de *K pneumoniae* avec un taux de 40% (voire la Figure23).

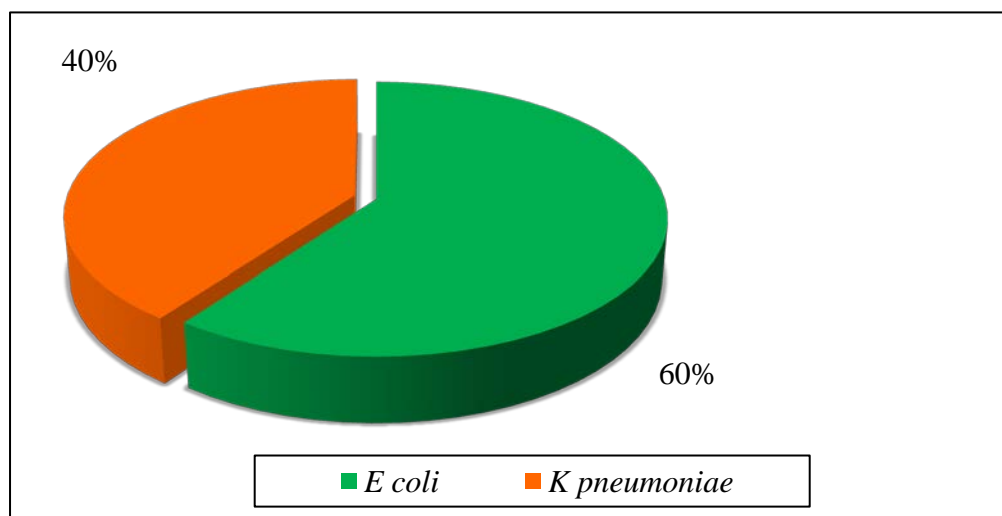


Figure 23 : Répartition des entérobactéries productrice de BLSE selon les espèces.



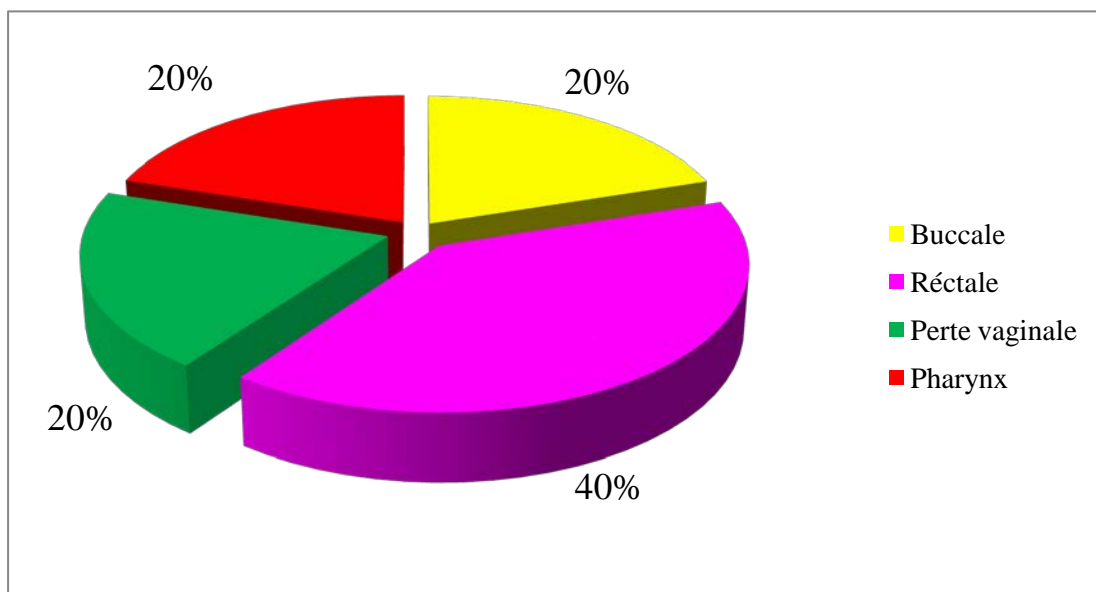
Photo 09 : Profil biochimique Api 20E de la souche d'*E. coli* avec un biotype 5144570.



**Photo 10:** Profil biochimique Api 20E de la souche *Klebsiella pneumoniae* avec un biotype 521577317.

#### 4. Répartition des EBLSE selon la nature de prélèvements :

La répartition des souches des Entérobactéries productrices de BLSE selon les différents sites de prélèvements, a montré que le prélèvement dominant est celles de rectal avec un taux 40% suivis par prélèvement à partir perte vaginale 20% et buccal 20% et pharynx 20% (voire la figure 25).



**Figure 25 :** Répartition des EBLSE selon les différents sites de prélèvements.

#### 4.2. Répartition des EBLSE selon le sexe des patients :

D'après les résultats obtenus nous constatons que les infections aux entérobactéries productrice de BLSE touchent les femmes avec une fréquence 75% par rapport les hommes avec une fréquence 25% (voire la Figure 26).

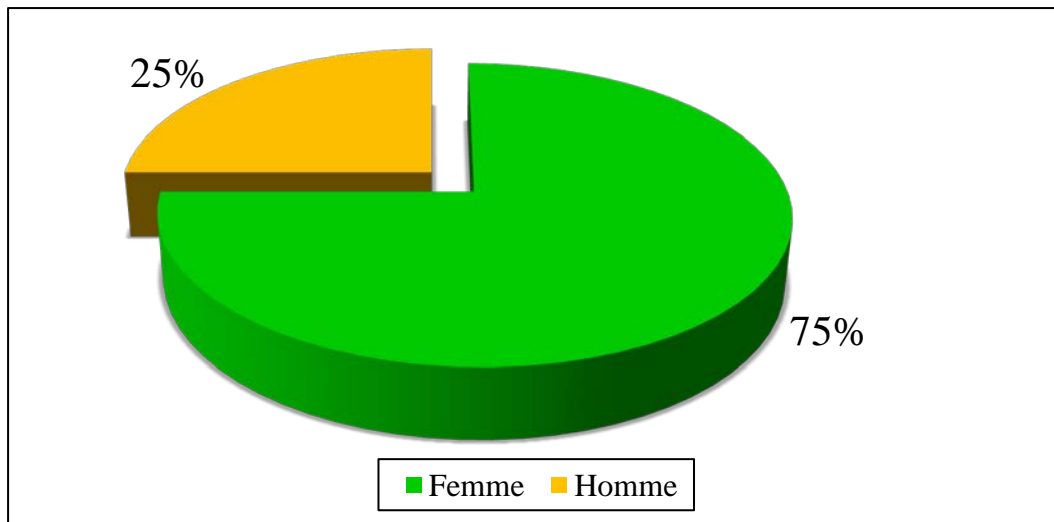


Figure 26 : Répartition EBLSE selon le sexe.

### 6.3. Répartition des EBLSE selon l'âge des patients :

La tranche d'âge qui semble la plus touchée par les infections à EBLSE dans notre étude est la population des enfants de moins d'une année (50%), suivi par la population des personnes entre 20 et 40 ans et les personnes qui ont un âge supérieur à 40 avec un pourcentage de (25%).

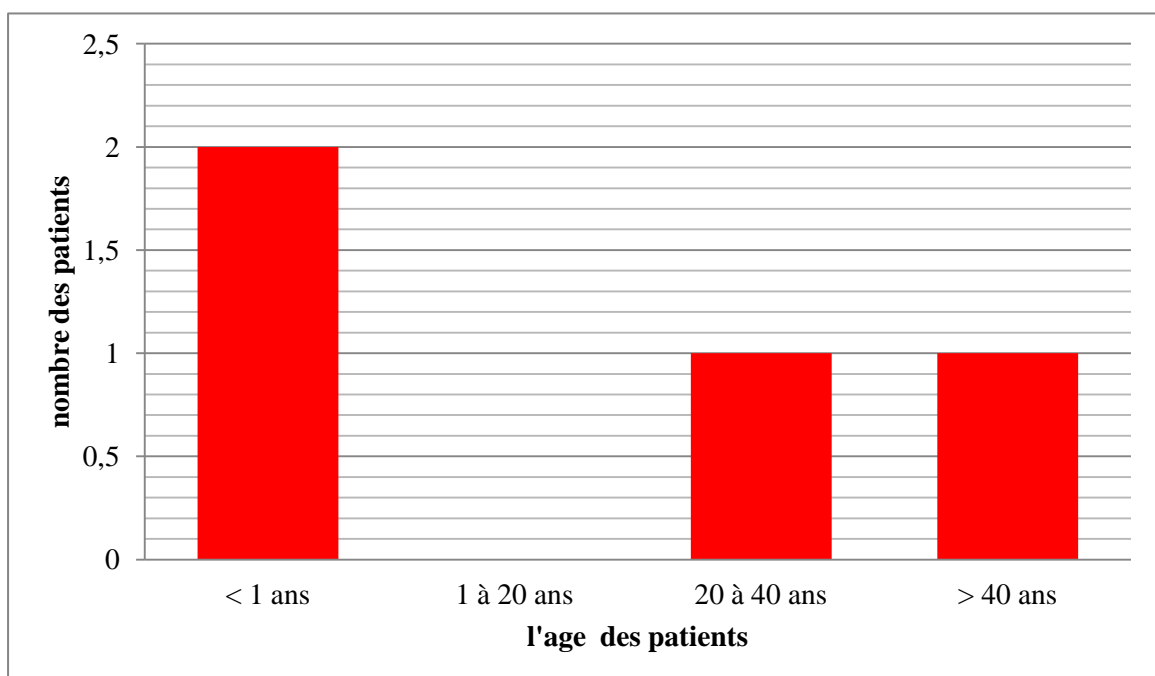


Figure 27 : Répartition des EBLSE selon l'âge des patients

#### 4.4. Répartition les EBLSE selon les services :

Les services d’où provenaient les souches productrices de BLSE a des taux élevés ont été la réanimation et le Pédiatre avec un taux de (40%) par contre un taux moindre dans la Maternité avec un pourcentage de (20%).

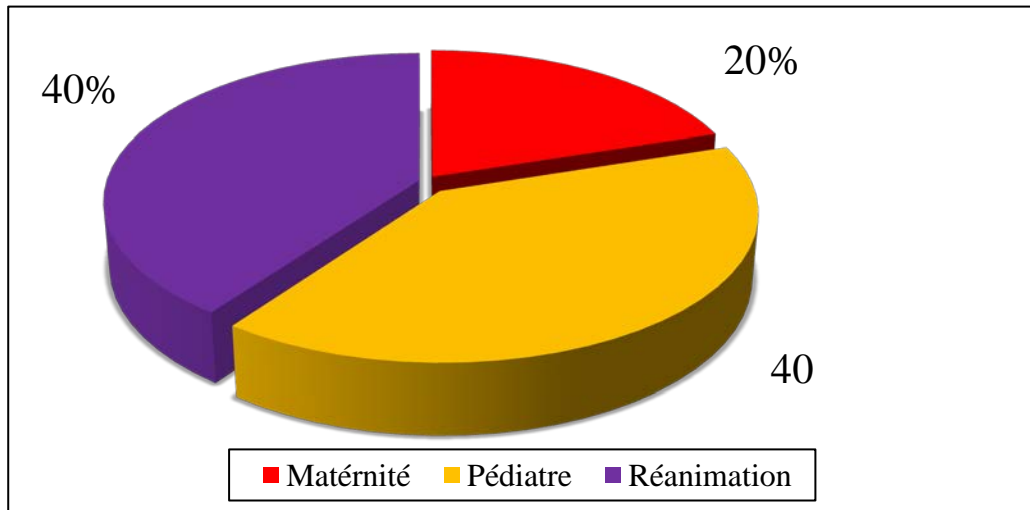
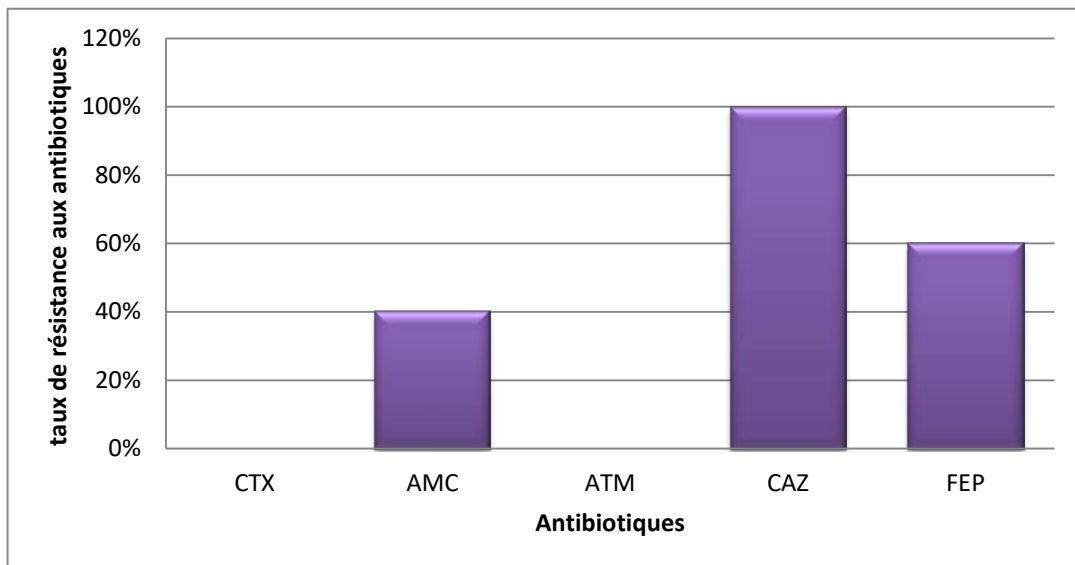


Figure 28 : Répartition des EBLSE selon les services.

#### 5.Étude de la sensibilité des EBLSE aux antibiotiques :

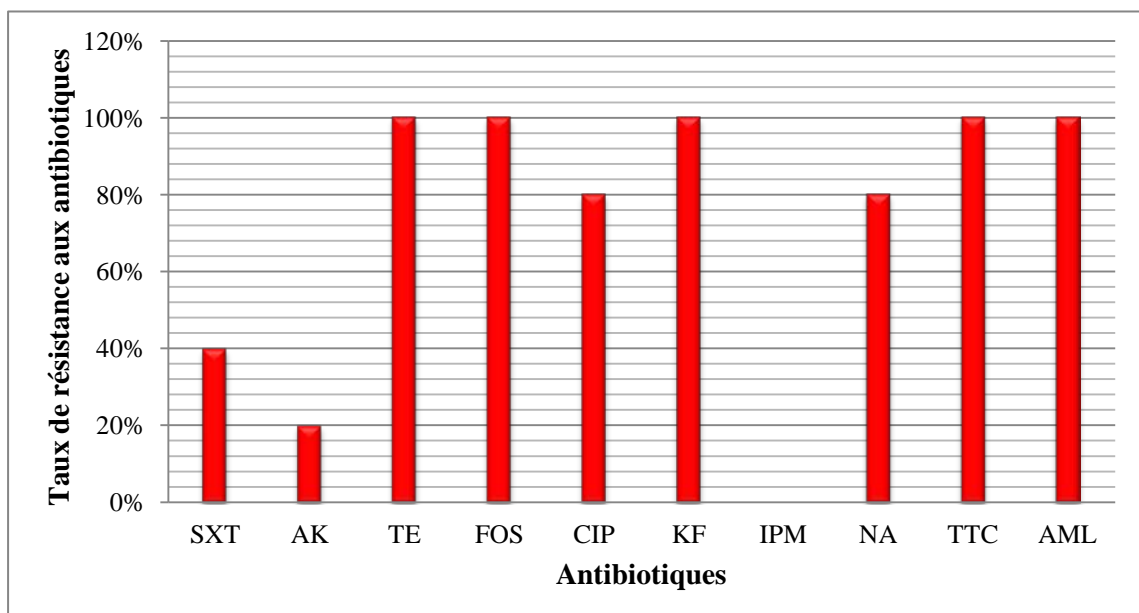
Les 5 souches des EBLSE qui ont trouvés testés vis à- vis 15 antibiotiques durant notre étude. Ces antibiotiques appartiennent à 3 familles antibiotiques :  $\beta$  lactamines, les Aminosides et les Quinolones classiques / Fluoroquinolone et d’autre antibiotiques comme Trimétoprime et Fosfomycine.

D’après l’histogramme, nous avons montrés que tous les EBLSE sont sensibles à le Céfotaxime et l’Aztréoname par contre une résistance totale vis-à-vis le Ceftazidime, une résistance élevé pour le Céfépime avec un pourcentage de 60% et une résistance faible vis-à-vis l’Amoxicilline- acide Clavolanique avec un taux de 40% (voire la Figure29).



**Figure 29 :** Taux de résistance des EBLSE aux  $\beta$ lactamines.

Les résultats obtenus nous ont permis de constater que les antibiotiques les plus actifs sur les souches isolées sont : l'Imipénème avec un pourcentage de sensibilité de 100%, l'Amikacine avec un pourcentage de sensibilité de 80% et le Triméthoprime Sulfaméthoxazole avec un pourcentage de sensibilité de 60%, par contre les EBLSE résiste 100% à : Tétracycline, Fosfomicine, Cepholtine, Ticarcilline+acide Clavolanique et Amoxicillin et une résistance de 80% vis-à-vis Ciprofloxacine et l'Acide Nalidixique (**voire la Figure 30**)



**Figure 30 :** Taux de résistance des EBLSE aux autres antibiotiques.

## **II. Discussion :**

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique dans le monde. En effet ces dernières années, nous avons constatés une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particulier chez les bacilles à Gram négatif. La résistance aux  $\beta$ -lactamines chez les entérobactéries est dominée par la production de BLSE de type CTX-M alors que ceux de la famille des TEM ou des SHV semblent diminuer (**RONDINAUD et al., 2020 ; EL HAMZAOUI et al., 2020 ; CHERVET et al., 2018 ; MUELLER et al., 2019; OTTER et al., 2019**).

Une étude a été réalisée par NDIR en 2016, portant sur l'impact de la production de BLSE sur la mortalité, comparé aux infections à des organismes non BLSE, a montré que les infections causées par des entérobactéries produisant des BLSE sont plus virulentes et associées à des résultats cliniques indésirables, y compris l'augmentation de la mortalité, des hospitalisations prolongées et des coûts économiques plus élevés (**NDIR, 2016**).

Les objectifs de cette étude consiste à évaluer le niveau de résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries isolées au niveau de l'hôpital d'Aine Sefra, de mettre en évidence la prévalence des souches productrices de BLSE, d'identifier le support génétique de la résistance aux  $\beta$ -lactamines.

Notre résultats ont montrés que les souches d'EBLSE ont été le plus souvent isolées des prélèvements rectales avec un pourcentage de 40%, mais dans des autres résultats les échantillons biologiques d'où ont été isolées les entérobactéries productrices de BLSE a des taux élevés ont été les urines (**CARDINALE et al., 2020 ; OURGHANLIAN et al., 2020 ; TSAI et al., 2018 ; JUNG et al., 2019 ; TIDRARINE, 2019**), Les services d'où provenaient les souches productrices de BLSE a des taux élevés ont été la réanimation avec un pourcentage de (70.1%) à Tlemcen et (42.3%) à Oran (**AYAD, 2017**), ces résultats sont presque identiques à celle qu'on a trouvé le service de réanimation et de pédiatre viennent en première place avec un pourcentage de 40%, par contre une autre étude réalisée au Maroc a montré que Le service d'hospitalisations le plus concerné étaie l'urologie (72%) (**SBITI et al., 2017**). Ces résultats pourraient-être du a certains facteurs tels que la durée d'hospitalisation, l'utilisation de sondes, une chirurgie récente et l'antibiothérapie. En effet, nombreuses sont les classes d'antibiotiques dont l'utilisation a été associée à l'émergence d'entérobactéries productrices de BLSE (**AIT KACI, 2019**).

Le sexe et l'âge sont des facteurs de risque importants pour contracter une infection par EBLSE. En effet, dans notre étude il y a une prédominance du sexe féminin avec un pourcentage de 75% contre 25% pour le sexe masculin. Cette susceptibilité féminine à développer cette infection est rapportée également par différentes études, nationales et internationales.

A France la majorité des infections EBLSE sont enregistrées chez des femmes (**KARDAS-SLOMA et al., 2019 ; LARRAMENDY et al., 2020**) Une étude Marocaine rapporte aussi une prédominance féminine (**SBITI et al., 2017**) Et en Mexico les fréquences enregistrées sont de l'ordre de 77,7% pour le sexe féminin et de 22,3% pour le sexe masculin (**GOLZARRI et al., 2019**).

La prévalence des entérobactéries productrices de BLSE déterminée dans cette étude s'élevait à 29,41% Ce taux est inférieur à ceux des études antérieures qui ont rapporté des prévalences de 54 % en 2013, 39,2% en 2017, et supérieur à 12,50 % en 2016 et 14,97% en 2019 chez des entérobactéries productrices de BLSE en Algérie (**TANI et ARLET, 2014; AYAD, 2017 ; RAHAL et al., 2018; AIT KACI, 2019**) Des travaux similaires réalisés dans certains pays de monde ont mis en évidence la production de BLSE chez les entérobactéries d'origine humaine a des taux variables.

Au France, les résultats d'une étude ont montrés que 10% d'entérobactéries ont été productrices de BLSE (**JOLIVET et al., 2020**). Une autre étude réalisée au Maroc a montré 13% d'entérobactéries testées étaient productrices de BLSE (**OUARDI et al., 2019**). De même, au Tunisie, les résultats des travaux de SAADI et al en 2019 ont rapporté un taux de 28 % d'entérobactéries productrices de BLSE (**SAADI et al., 2019**).

Dans cette étude, nous avons isolé 5 souches d'entérobactéries productrices de BLSE, dont 3 souches d'*E coli* avec une prévalence de 60%. Ce résultat est relativement proche de celui rapporté en Corée avec un pourcentage de 71,7% (**AHN et al., 2019**) et aux USA le taux de *E coli* productrice de BLSE atteindra (56,1%). (**THOMPSON et al., 2020**).

Au France les deux espèces les plus fréquentes étaient *E. coli* (75,9 %) et *Klebsiella pneumoniae* (9,1 %) Les souches d'*E. coli* produisaient significativement moins de BLSE que les souches de *K. pneumoniae* (6,4 % vs 18,9 %,.) (**GUILLARD et al., 2019**).

Le profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées a été déterminé par la technique de l'antibiogramme vis-à-vis 15 antibiotiques obtenus.

Les résultats que nous avons montrés indiquent que toutes les souches étudiées sont résistantes à la Céphalotine, avec un taux de résistance de 100% et à l'acide Nalidixique avec un taux de 80%. Une sensibilité totale de 100% est observée vis-à-vis le Céfotaxime et l'imipénème. En France la résistance des entérobactéries productrices des BLSE à la Céphalotine, l'acide Nalidixique et le Céfotaxime est de 37,4%, 15,7%, 2,8% respectivement avec une sensibilité totale à l'imipénème (BAIZET *et al.*, 2019).

En Canada, aux États-Unis, en Afrique, en Europe et en Asie les antibiotiques les moins actifs étaient le Céfepime et le Céfotaxime (taux de résistance de 75,5% et 60,7% respectivement). Le taux de résistance était moindre pour l'Amikacine 3% (KARLOWSKY *et al.*, 2020) ces résultats sont identiques à ceux qu'on a trouvés pour le Céfepime 60%, le Céfotaxime 100% et l'Amikacine 20%.

Nos résultats montrent également, que la fréquence de résistance des EBLSE à la Ciprofloxacine est de l'ordre de 80%. Ce qui est similaire aux résultats obtenus par WALKTY *et al.* 84% (WALKTY *et al.*, 2020).

Pour les  $\beta$  lactamines aucune sensibilité n'a été observée vis-à-vis d'Amoxicilline et l'association de ticarcilline et l'acide clavulanique en revanche les EBLSE ont présenté une résistance à l'association de l'amoxicilline et l'acide clavulanique avec un taux de 40%.

En 2019, GADOU a rapporté un taux de résistance à l'Amoxicilline, l'association de ticarcilline et l'acide clavulanique et l'association de l'amoxicilline et l'acide clavulanique de 100% (GADOU, 2019).

Nos résultats montrent que la résistance à la Triméthopime sulfatoxazole (SXT) exprime un taux faible (40%), ce résultat est inférieur relativement au résultat montré par JUNG *et al.* en 2019 à la Corée 62% (JUNG *et al.*, 2019).

Toutes les souches de EBLSE ont été sensibles à l'Aztréoname. Plusieurs auteurs ont rapporté des taux de résistance variable à l'aztréoname : 95,4% de souches BLSE sont résistantes à l'aztréoname dans l'étude rapportée par ALDRAZI *et al.* (ALDRAZI *et al.*, 2020) et 75% rapportée par JUNG *et al.* (JUNG *et al.*, 2019).

Concernent le Fosfomycine, ce dernier présente une résistance totale. Ce résultat est très différent de celui de WALKTY et al ou un taux de résistance de 1,2% a été révélé (WALKTY et al., 2020).

La détermination des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines a montré que la totalité des souches appartient au phénotype CTX-M avec un pourcentage de 39,28 % qui correspond à la production de BLSE de type CTX-M-15 (BROUSSIE et al., 2020). La prédominance du gène *blaCTX-M* a été obtenue dans des études réalisées au London, Northwest et Écosse avec un pourcentage de 93,49%, deux types de BLSE ont été également détectés au cours de ces études, mais avec une faible fréquence. Il s'agit de SHV 2,86% et TEM 3,65% (DAY et al., 2019).

En Algérie les gènes *blaCTX-M*, *blaTEM*, *blaSHV* ont été déjà retrouvés dans les travaux de AYAD dans les hôpitaux algériens (Tlemcen, Oran et Sidi Bel Abbès) chez 67 entérobactéries productrices de BLSE et les proportions des gènes *blaCTX-M*, *blaTEM* et *blaSHV* étaient respectivement de 95,5%, 1,5%, et 3% (AYAD, 2017). Cette différence des proportions des gènes entre les études peut être due au nombre de souches productrices de BLSE utilisées dans chacune d'entre elles. Au Suisse les gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines détectés ont été les gènes *blaCTX-M* (23,08%), *blaTEM* (34,62%), *blaSHV* (34,62%), et *blaOXA-48* (7,69%) (SADEK et al., 2020).

# *Conclusion et Perspectives*

**Conclusion :**

Ce travail réalisé pour l'objectif d'étudier et isoler les entérobactéries productrices de  $\beta$  lactamase à spectre étendu isolées à partir des patients hospitalisés au niveau l'hôpital Mohamed Boudiaf de Ain Séfra wilaya de Naama.

Durant cette étude 13 prélèvements ont été recueillis, 17 souches d'entérobactéries ont été isolées de divers échantillons biologiques provenant de divers services hospitaliers.

La production de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi a été mise en évidence chez 5 souches (29%) avec une prédominance de la souche *E. coli* avec un pourcentage de 60%. Il en ressort que dans notre étude nous avons notées une différence majeure dans la répartition des sexes, les femmes sont exposées aux infections EBLSE avec 75%, tandis que les hommes 25%.

Dans la partie pratique, nos principaux objectifs sont d'identifier les entérobactéries résistantes aux antibiotiques donc on a utilisé les tests biochimiques pour l'identification les souches et pour l'établissement du profil de résistances vis-à-vis 15 antibiotiques réalisé par test de synergie, le test confirmatif double disque et antibiogramme.

L'évaluation de la sensibilité des souches aux antibiotiques a montré une résistance à la plupart des molécules testées. Les taux de résistance les plus élevés ont été observés avec L'amoxicilline (AMX), fosfomycine (Fos), tétracycline (TE) Ticarcilline +Acide clavulanique (TTC), Cephlotine (KF) et la céftazidime (CAZ) (toutes les souches résistantes), ils ont été suivis par l'acide nalidixique (NA) et la ciprofloxacine (CIP) (80%) . Viennent en troisième position le céfépime (FEP) (60%). En quatrième position viennent l'association sulfaméthoxazole-triméthoprim (SXT) et l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) (40%). Viennent en cinquième position l'amikacine (AK) (20%). Le céfotaxime (CTX), l'aztréonam (ATM) et l'imipénème (IPM) ont été actifs sur toutes les souches.

L'émergence des entérobactéries productrices de  $\beta$  lactamase à spectre étendu liée à l'usage excessif et non documentée des antibiotiques, notamment à large spectre, en milieu externe, aussi l'encombrement dans les services hospitaliers ainsi que le défaut d'isolement des patients infectés est l'un des causes de la transmission de ces bactéries. Avec tous les effets délétères sur la santé publique que cela implique. Une réponse doit être apportée à ce problème par des recommandations de prescription basées sur des études régulières sur les niveaux et les types de résistance prévalent et sur la quantité et la qualité des molécules prescrites. (CARTTOIR, 2004)

**Perspectif :**

D'après cette étude sous le titre : les entérobactéries productrices de  $\beta$  lactamase à spectre étendu nous avons décidé de propose quelques suggestions pour trouve des solutions de cette problématique :

- Utilisation rationnelle des antibiotiques.
- Maitre les bonnes pratiques hygiènes pour réduire la propagation de ces bactéries surtout en milieu hospitalière.
- Forme des communautés au niveau de l'établissement de santé pour contrôlé les infections nosocomiales.
- Développement de nouvelles techniques pour la détection rapide ces bactéries résistances. (TARGNET, 2010)

Ce travail a souligné les facteurs de risque de résistance aux antibiotiques ci pour ça on nécessite des tests permettant la détection de ces souches, pour l'obtention du résultat d'identification nécessite beaucoup de temps et matérielles, mais la situation sera milieu si on a utilisé les nouvelle techniques d'identification rapide pour accélérer le travail tell que la spectrométrie de masse ou les technique de biologie moléculaire PCR pour la recherche des gènes de résistances spécifiques.

*Références  
bibliographiques*

**A**

- 1- ABID F., BOUTEFNOUCHET N., DEKHIL M., BOUZERNAN.** Klebsiella pneumoniae productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville de Annaba, Algérie. Scientific study & Research VII, 2, (2007) : pp 199-214.
- 2- AHN SUN TAE., SANG WOO KIM., JONG WOOK KIM., HONG SEOK PARK., DU GEON MOON., MI MI OH.** Does urinary tract infection caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Escherichia coli show same antibiotic resistance when it recurs?. Journal of Infection and Chemotherapy, 25 (2019) : pp 498-502.
- 3-AKIL Z.** Profil épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénémases isolées au CHU Ibn Sina-Rabat. Thèse de pharmacie. Université Mohamed V de Rabat, (2014).
- 4- ALDRAZIA FATIMA., ALI RABAAN., SHAHAB ALSULIMAN., HEBAH ALDRAZID., MOHAMMED ALABDALSAME., SALMAN ALSADIQ., HATEM ALHANI., AHMED BUEID.** ESBL expression and antibiotic resistance patterns in a hospital in Saudi Arabia: Do healthcare staff have the whole picture?. Journal of Infection and Public Health, 13, (2020) : pp 759–766.
- 5-AMBLER, R.P.** The structure of  $\beta$ -lactamases. Phil Trans R Soc Lond Biol Sci, 289, (1980): pp 321-331.
- 6-AMBLER R., COULSON A., FRERE J., GHUYSEN J., JORIS B., FORSMAN M., LEVESQUE R., TIRABY A., WALEY S.** A standard numbering scheme for the class A  $\beta$ -lactamases. Biochem. J, 276 (1), May (1991) : pp 269-270.
- 7-ARCHAMBAUD M.** Les Antibiotiques : mode d'action et mécanisme de résistance. Laboratoire de Bactériologie-Hygiène. CHU Rangueil Toulouse. (2009) : 38 pp.
- 8- AIT-KACI O.** Portage-dépistage des entérobactéries multi-résistantes chez les sujets admis en réanimation, et des sujets atteints d'hémopathies malignes. Thèse de fin d'étude Présentée en vue de l'obtention du titre de Docteur en Pharmacie. Université Saad Dahlab – blida 1 faculté de médecine département de pharmacie, Blida, (2019) : 131 pp.
- 9-AYAD A.** Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez Escherichia coli au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, (2017) : 139 pp.

**10-ASHLEY YEAGER.** Ancient Protein Helps E. coli Thwart Viral Attack. May (2017).

**B**

**11- BAIZET C., OUAR-EPELBOIN S., WALTERD G., MOSNIER E., MOREAU B., DJOSSOUD F., EPELBOIN L.** Decreased antibiotic susceptibility of Enterobacteriaceae causing community-acquired urinary tract infections in French Amazoni. *Communication Médecine et maladies infectieuses*, 49, (2019) : pp 63–68.

**12- BARRIAL K., SCOTET J.** Classification et perspectives d'évolution des  $\beta$ -lactamases chez les BGN. *Perspective d'évolution. DES bactériologies*, (2006) : 38pp.

**13- BEATRICE D., MARION G., DUVAL R.** Pharmacie clinique et thérapeutique : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation Pharmacie clinique et thérapeutique. 5ème édition, Elsevier Masson, paru, (2018) : 1192 pp.

**14-BELBEL Z.** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse de Doctorat en Microbiologie Appliquée, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie, (2014) : 146 pp.

**15- BENNET R., ERIKSSON M., MELEN B., ZETTERSTROM R.** Changes in the incidence and spectrum of neonatal septicemia during a fifteen-year period. *Acta Paediatr.Scand.* (74), (1985) : pp 687-690.

**16- BENNANI M.** Recherche d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu isolées dans les selles. Projet de Fin d'Études [Licence Sciences et Techniques Biologie et Santé]. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, (2014).

**17- BENSOUILAH T., KIRATI H., TOUATI H.** Microbiologie des fientes de quelques espèces aviaires nicheuses dans la région de Guelma. Mémoire de Master, Université de Guelma, (2012) : pp 53 -59.

**18- BERGEY.** *Manual of systematic Bacteriology*. 2ème Edition.vol 1. (2001).

**19- BONNET R.** Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases : the CTXM enzymes. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 48(1), janvier (2004) : pp 1–14.

**20- BOUGUENOUN W.** Étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la

région de Guelma. Thèse de doctorat d'état. Université Badji Mokhtar, Annaba, (2017) : 170 pp.

**21- BOUTAL H.** Développement et validation de tests de détection rapide de la résistance aux antibiotiques. Thèse de doctorat d'état. Université Paris-Saclay, Paris, (2017) :243 pp.

**22- BOYER P., JEHL F.** Céphalosporines. *Maladies infectieuses*, 16 (4), Novembre (2019) : pp119.

**23- BRAHIMI L.** Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V Souissi, Rabat, (2013) : 93pp.

**24- BRATZLER D., DELLINGER E., OLSEN K., PERL T., AUWAERTER P., BOLON M., FISH D., NAPOLITANO L., SAWYER R., SLAIN D., STEINBERG J., WEINSTEIN R.** Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Am J Health-Syst Pharm*, 70(3), (2013) : pp 195–283.

**25- BRADFORD P.** Automated thermal cycling is superior to traditional methods for nucleotide sequencing of blaSHV genes. *Antimicrob Agents Chemother*, 43(12), Dec (1999) : pp 2960–2963.

**26- BRADFORD, P.A.** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21 st century : characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Review*, 14, (2001) : pp 933-51.

**27- BROUSSIER M., GBAGUIDI-HAORE H., RACHIDI-BERJAMY F., BERTRAND X., SLEKOVEC C.** Prevalence, genetic diversity of and factors associated with ESBL-producing Enterobacterales carriage in residents of French nursing homes. *Journal of Hospital Infection*, 104, (2020) : pp 469-475.

**28- BRYSKIER A.** Antibiotiques agents antibactériens et antifongiques : Pénicillines, Ellipses, Paris, (1999) : pp 1216.

**29- BURDASH NM., TETI G., WEST ME., BANNISTER E., MANOS J.** Evaluation of an automated, computerized system (automicrobic system) for Enterobacteriaceae identification, *Journal of clinical microbiology* 13 (2), (1981) : pp 331-334.

**30- BUSH K., JACOBY GA., MEIDEROS AA.** A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamase and its correlation with molecular structures. *Antimicrob Agents Chemother*, 39, (1995) : pp 1211-1233.

C

- 31- CARDINALE E., COLBACHINI P., PERRIER- ROS-CLAUDE JD., ASSAMA A., A D ARA-KANE A.** Dual emergence in food and humans of a novel multiresistant serotype of Salmonella in Senegal : Salmonella enterica subsp. enterica serotype 35: c: 1, 2. Journal of clinical microbiology 39(6), (2001) : pp 2373-2374.
- 32- CARDINALE M., BOURBOTTE-SALMONB F., SCHEIWEC C., BOULEZAZD S., RIDETE M., LAITSELART P.** Antimicrobial resistance in N'Djamena (Chad) : Four-year experience of the French Forward Medical and Surgical Team engaged in the "Barkhane Operation. Journal Médecine et maladies infectieuses, (2020).
- 33- CARPENTER, J. L.** Klebsiella pulmonary infections : occurrence at one medical center and review. Review, 12, (1990) : pp 672-682.
- 34- CARRÈR A., POIREL L., YILMAZ M., AKAN O., FERIHA C., CUZON G., MATAR G., HONDERLICK P., NORDMANN P.** Emerging spread of OXA-48-encoding plasmid from Turkey and beyond. Antimicrobial Agents Chemotherapy, 54(3), Mar (2010) : pp 69-73.
- 35- CATTOIR V.** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. Pathologie biologie 52(10), (2004) : pp 607-616.
- 36- CARPENTER, J. L.** Klebsiella pulmonary infections : occurrence at one medical center And review. Review Infect.Dis, 12, (1990) : pp 672-682.
- 37- CARTER, M.W., OAKTON, K.J., WARNER M., LIVERMORE, D.M. 2000.** Detection of extended spectrum beta-lactamases in Klebsiellae with the Oxoid combination disk method. J Clin Microbiol, 38 : pp 4228-4232.
- 38- CAVALLO D., FABRE R., JEHL F., RAPP C., GARRABE E.** Bêta-lactamines. EMC-Maladies Infectieuses, 1(3), Jan (2004) : pp 129-202.
- 39- COHEN JON.** Scientists engineer a powerful new weapon against antibiotic-resistant bacteria. Photo library/alamy stock photo. (2018).
- 40-COLLIGNON A., BELJEAN-LEYMARIE M., FARINOTTI R., DOUTREMEPUICH C.** Infectiologie : Mécanisme généraux de résistance aux antibiotiques. 3eme édition, Groupe Liaisons, Paris, (2007) : 1036 pp.

**41-COQUE T., BAQUEROT F., CANTON R.** Increasing prevalence of ESBL – producing Enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance*, 13(47), (2008) : pp 1–11.

**42- COURVALIN L., LECLERCQ R.** *Antibiogramme*. 3ème édition, ESKA E, Paris, (2012) : 800 pp.

**43- CHAMPS C., SAUVANT MP., CHANAL C., SIROT D., GAZUY N., MALHURET R., BAGUET JC., SIROT J.** Prospective survey of colonization and infection caused by expanded-spectrum-bêta-lactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae in an intensive care unit. *J Clin Microbiol*, 27(12), Décembre (1989) : pp 2887-90.

**44- CHANTAL BERTHOLOM.** *Antibiogramme direct à partir des hémocultures*. Communication de C. Cattoen – Valenciennes, France Congrès national de la SFM. Octobre (2017) : pp 571-572.

**45- CHERVET D., LORTHOLARY O., ZAHAR, J.R., DUFOUGERAY A., PILMIS B., PARTOUCHE H.** Antimicrobial resistance in community-acquired urinary tract infections in Paris in 2015. *Med. Mal. Infect.* 48 (3), (2018) : pp188–192.

**46- CHIKHANI-NAJIBY KASSIS.** *Klebsielle Pneumoniae pathogène nosocomial, résistance et virulence*. Thèse Microbiologie et Parasitologie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, (2012).

**47- CA-SFM.** Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Communiqué 2010. Société Française de Microbiologie, Paris, France. 2007.

**48- CA-SFM.** Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Société Française de Microbiologie, Paris, France. Recommandations 2010 Janvier.

**49- CA-SFM.** Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Communiqué 2010. Société Française de Microbiologie, Paris, France. 2019.

## D

**50- D'ANDREA M., ROSSOLINI M., MUGNAIOLI C.** The spread of CTX-M-type extended spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect*, 14(1), Janvier (2008) : pp 33-41.

**51- DATTA N., KONTOMICHALOU P.** Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Article*, 208, (1965) : pp 239-241.

**52- DAY MICHAELA J., KATIE L HOPKINS., DAVID W WAREHAM., MARK A TOLEMAN., NICOLA ELVISS., LUKE RANDALL., CHRISTOPHER TEALE., PAUL CLEARY., CAMILLA WIUFF., MICHEL DOUMITH., MATTHEW J ELLINGTON., NEIL WOODFORD., DAVID M LIVERMORE.** Extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in human derived and foodchain derived samples from England, Wales, and Scotland : an epidemiological surveillance and typing study. Article Lancet Infect Dis,19, (2019) : pp 35-1325.

**53- DELARRAS C.** Microbiologie pratique pour le laboratoire. Paris : Editions TEC & DOC, (2007) :476 pp.

**54- DENIS F., PLOY C., MARTIN C., BINGEN E., QUENTIN R.** Bactériologie médicale : Techniques usuelles.2eme Ed. Elsevier Masson, (2007), pp 335-401.

**55- DENIS F., PLOY M-C., MARTIN C., BINGEN E., QUENTIN R.** Bactériologie médicale : techniques Usuelles. Elsevier Health Sciences, (2011).

**56- DIALLO A.** *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de doctorat en Microbiologie. Université Paul Sabatier, Toulouse, (2013) : 204pp.

**57- DOIT C., MARIANI-KURKDJIAN P., BINGEN E.** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu. *Archives de Pédiatrie. Volume 17, Supplément 4, Septembre (2010) : pp 140-S144.*

## E

**58- EL HAMZAOUIA NAJIA., ABOUDIHAJ BERGUIGUAB., KAOUTER NAYME., SBITI MOHAMED., MOHAMMED TIMINOUNI., LHOUSSAIN LOUZ.** Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in uro-pathogenic Enterobacteriaceae isolated from a community setting, Meknes, Morocco. *Journal Gene Reports*, 19, (2020).

## F

**59- FARMER J., DAVIS BR., HICKMAN-BRENNER F., MCWHORTER A., HUNTLEY-CARTER G., ASBURY M., RIDDLE C., WATHEN-GRADY H., ELIAS C., FANNING G.** Biochemical identification of new species and biogroups of

Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. Journal of clinical microbiology,21(1), (1985) : pp 46-76.

**60- FAUCHERE, J. L., AVRIL, J. L.** Bactériologie générale et médicale.6ème édition, Ellipses, paris, (2002) : 368 pp.

**61- FOSSEPREZ P.** Antibiothérapie en pratique de ville : Constat et réflexions sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'antibiorésistance. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine, Nancy, (2013) : 135pp.

**62- FRENY J., RENARD., RIEGEL P.** précis de bactériologie clinique, 2ème édition, paris, (2007) : 1764pp.

## G

**63- GADOU VICTOIRE.** epidemiologie moleculaire des enterobacteries productrices de  $\beta$ lactamases a spectre elargi resistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'abidjan, côte d'ivoire. THESE Présentée pour l'obtention du Titre de Docteur. L'Université Félix HOUPHOUET BOIGNY. (2019) :218pp.

**64- GAZENGEL J., ORECCHIONI A.** Le préparateur en pharmacie, 2eme édition, Lavoisier, Paris, (2013) : pp1761.

**65- GNIADKOWSKI M.** Evolution of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases by mutation. Clin MicrobiolInfect, 14, (2008) : pp 11-32.

**66- GOLZARRI MARÍA FERNANDA., JESUS SILVA-SANCHEZ PHD., PATRICIA CORNEJO-JUAREZ, HUMBERTO BARRIOS-CAMACHO PHD., LUIS DAVID CHORA-HERNANDEZ MD., CONSUELO VELAZQUEZ-ACOSTA., DIANA VILAR-COMPTE.** Colonization by fecal extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae and surgical site infections in patients with cancer undergoing gastrointestinal and gynecologic surgery. American Journal of Infection Control, 47, (2019) : pp 916–921.

**67- GRALL N., MULLER-SERIEYS C.** Carbapénèmes. EMC - Maladies infectieuses, 10 (1), février (2013) : pp 1-10.

**68- GHAROUT SAIT.** Etude de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries hospitalières et communautaires. Thèse de doctorat. Université A. MIRA, BEJAI. (2016) :195pp.

**69- GUIRAUD J-P.** Microbiologie alimentaire. DUNOD. Paris. (2012) : pp 253-254.

**70- GUILLARD F., MERENS A., DORTET L., JANVIER F., LEBRUN C., YIN N., GRILLON A., AMARA M., JAUREGUY F., HERY-ARNAUD M.** Évaluation de la prévalence de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries isolées de prélèvements urinaires dans les services d'urgence de France. 20e journées nationales d'infectiologie / Médecine et maladies infectieuses, 49, (2019) : pp 110–117.

## H

**70- HOQUET D., LIANE I., PATRY F., GARCH E., PLESIAT P.** Two efflux systems expressed simultaneously in clinical *Pseudomonas aeruginosa*. Pathology Biology. 52(8), Octobre (2004) : pp 455-461.

## J

**72-JALALZAI WAJMA.** « Arrêt du dépistage systématique du portage digestif d'entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE) dans un service de réanimation hors période épidémique : impact sur l'incidence des infections nosocomiales à EBLSE et la consommation de carbapénèmes ». Thèse doctorat en médecine. Université François Rabelais Tours. (2018) : 58pp.

**73-JARLIER V., NICOLAS, M.H., FOURNIER G., PHILIPPON A. 1988.** Extended-broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in Enterobacteriaceae : hospital prevalence and susceptibility patterns, Rev Infect Dis, 10, (1988) : pp 867–878.

**74- JOFFIN J., LEYRAL.** Microbiologie Technique Tome 1" Dictionnaire des techniques". Bordeaux, France, centre régional de documentation d'Aquitaine. (2006).

**75- JOLY B., REYNAUD A.** Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Ed TEC & DOC et Ed médicales Internationales. Paris, (2002) : pp 356-392.

**76- JOLIVET S., LOLOM I., BAILLY S., BOUADMA L., LORTAT-JACOB B., MONTRAVERS P., ARMAND-LEFEVRE L., TIMSIT., LUCET.** Impact of colonization pressure on acquisition of extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriales and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in two intensive care units : a 19-year retrospective surveillance. Journal of Hospital Infection, 105, (2020) : pp 10-16.

**77- JUNG YOUNGHEE., SEUNG SOON LEE., WONKEUN SONG., HAN-SUNG KIM., YOUNG UH.** In vitro activity of flomoxef against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *Journal Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 94, (2019) : pp 88–92.

**K**

**78- KARDAS-SLOMA., PEROZZIELLO A., ZAHAR J-K., LESCURE X., YAZDANPANA H., LUCET J.** Transmission d'*Escherichia coli* résistant aux  $\beta$ -lactamines (*E. coli* BLSE) dans la communauté : modélisation et évaluation de l'impact des interventions. Posters affichés et discutés en session (PADS) 1. *Médecine et maladies infectieuses*, 49, (2019) : pp 30–34.

**79- KARLOWSKY JAMES., KRZYSTYNA M., KAZMIERCZAK., KATHERINE YOUNG., MARY R., MOTYL., DANIEL F.** In vitro activity of ceftolozane/tazobactam against phenotypically defined extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-positive isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from hospitalized patients (SMART 2016). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 96, (2020) : pp 114925.

**80- KASSAMA M., HAMADI S.** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des Souches d'entérobactéries isolées à l'établissement hospitalier spécialisé de Constantine. Thèse. Université Constantine 1, Constantine, (2013) : pp 62.

**81- KING, L. A., LOUKIADIS E., MARIANI-KURKDJIAN., HAEGHEBAERT S., WEILL F., BALIERE C., GANET S., GOUALI M., VAILLANT V., PIHIER N., CALLON H., NOVO R., GAILLOT O., THEVENOT-SERGENTET D., BINGEN E., CHAUD P., DE VALK H.** 2014. Foodborne transmission of sorbitol fermenting *Escherichia coli* 150 O 157 : [H7] via ground beef : an outbreak in northern France. *Clinical Microbiology and Infection*, (2011).

**82-KOHANSKI M., DWYER D., HAYETE B., LAWRENCE C., COLLINS J.** common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*, 130(5), (2007) : pp797-810.

**83- KOIJANE L.** Epidémiologie et résistance des bactéries multi-résistantes à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Mohammed v Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, (2011) :128pp.

**L**

- 84- LABID A.** Etude fréquentielle des bactéries responsables des infections septicémiques chez les enfants dans la région d'Annaba. Thèse de doctorat d'état. Université Badji Mokhtar, Annaba, (2014).157pp.
- 85- LARRAMENDYA S., GAULTIER A., GIFFOND S., THIBAUT S., CAILLONF J., MORET L., BEAUDEAUB F.** Prevalence of extended-spectrum bêta lactamase- producing *Escherichia coli* in community acquired urinary tract infections in Western France. Letter to the editor / *Médecine et maladies infectieuses*, 50, (2020) : pp 293–304.
- 86- Le MINOR L., VERON M.** Bactériologie médicale. 2eme édition, Edition Flammarion Médecine-Sciences, Paris, (1998) : pp 312-459.
- 88- LE MINOR L., RICHARD C.** Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut Pasteur. (1993).
- 89- LEVINE M.** *Escherichia coli* that cause diarea : entérotoxigenic ,entéroinvasive, entérohemorrhagic and enteroadherent. *Journal of infectious Diseases* 155, (1988) : pp 377 - 389.
- 90- LIMBERT M., ISERT D., KLESEL N., MARKUS A., SEEGER K., SEIBERT G.** Antibacterial activities in vitro and in vivo and pharmacokinetics of Cefquinome (HR111V), a new broad Spectrum cephalosporin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35 (1), jan (1991) : pp14-19.
- 91- LIVERMORE, D. M.**  $\beta$ -lactamase mediated resistance : past, present and future. *J. Infect. Dis. Soc*, 6, (1995) : pp 75-83.
- 92- LIVERMORE M.**  $\beta$ -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev*, 8(4), Octobre (1995) : pp 557-584.
- 93- LIVERMORE DAVID M.** Bacterial Resistance : Origins, Epidemiology, and Impact, *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 36, January (2003) : pp 11–23.
- 94- LINE PEPIN-PUGETA., FARID EL GARCHB., XAVIER BERTRAND., BENOIT VALOTD., DIDIER HOCQUETA.** Genome analysis of enterobacteriaceae with non-wild type susceptibility to third-generation cephalosporins recovered from diseased dogs and cats in Europe. *Journal Veterinary Microbiology*, 242, (2020).

**M**

- 95-MASTERTON R., DRUSANO G., Paterson DL., Park G.** Appropriate antimicrobial treatment in nosocomial infections-the clinical challenges. *J Hosp Infect*, 55, (2003) : pp 1–12.
- 96- MERIGGI MACEY.** UPDATE : Three More Cases of Shigellosis Infection Confirmed at ECISD Schools. Octobre (2015).
- 97- MIRABAUD.** Entérobactéries à bêta-lactamases à spectre élargi en pédiatrie en 1996. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en médecine. L'Université de Genève, (2003) : 52 pp.
- 98- MILLEMANN YVES.** Le pouvoir pathogène des salmonelles : facteurs de virulence et modèles d'étude. *Veterinary Research, BioMed Central*, 29 (5), (1998) : pp385-407.
- 99- MONTET M.** Contamination des aliments par *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines. (2009) :72 pp.
- 100- MOULIN M et COQUEREL A.** Pharmacologie. 2ème édition, Elsevier Masson, Paris, (2002) : pp 163-191.
- 101- MUELLER L., CIMEN C., POIREL L., DESCOMBES M., NORDMANN P.** Prevalence of fosfomycin resistance among ESBL-producing *Escherichia coli* isolates in the community, Switzerland. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* (2019) : pp 1–5.

**N**

- 102- NEU H.** Lactam antibiotics : structural relationships affecting in vitro activity and pharmacologic properties. *Rev Infect Dis*, 8 (3), (1986) : pp 237–259.
- 103- NDIR A.** Epidémiologie et impact médico-économique des infections hospitalières causées par les Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu au Sénégal. Thèse de Doctorat. Bactériologie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, Français, Décembre (2015) : 136 pp.

**O**

- 104- OTTER J., NATALE A., BATRA R., AUGUET O., DYAKOVA E., GOLDENBERG S., EDGEWORTH J.** Individual- and community level risk factors for ESBL Enterobacteriaceae colonization identified by universal admission screening in London. *Clin. Microbiol. Infect.* 25 (10), (2019) : pp 1259–1265.

**105- OURGHANLIANA C., CARUBAB T., FACCHINB A., HASHEMIANB S., GERLINGERC M., SABATIERB B., POUCHOTD J., LEBEAUXC D., MICHOND A.** Amélioration de l'adéquation des antibiothérapies aux recommandations et de leur réévaluation par une action pluridisciplinaire : étude prospective dans un service de médecine interne. *La Revue de médecine interne*,41, (2020) : pp 8–13.

**106- OUARDI RAOUIA.** Le profil bactériologique actuel de l'infection urinaire et l'état de résistance aux antibiotiques. Thèse du Doctorat en Médecine. Université Cadi Ayyad, MARREKECH, Juillet (2019) : 194 pp.

**P**

**107- PATERSON DL., BONOMO RA.** Extended spectrum  $\beta$ -lactamases : à clinical update. *Clinical microbiology reviews*,18(4), (2005) : pp 657-686.

**108- PATERSON DL.** Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae. *The American Journal of Medicine*,119 (6A), (2006): pp 20-28.

**109-PAVAGEAU J.** Study of the antibiotic resistance Gram negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*: which actual and future therapeutic solutions against the resistant bacterial infections?. *Pharmaceutical sciences*. (2017).

**110- PEAN Y., GOLDSTEIN F., DE BELS F.** Évolution de la sensibilité et épidémiologie de la résistance des entérobactéries de ville au cours des enquêtes Vigil'Roc. *Médecine et maladies infectieuses*, 31(10), (2001) : pp 609-621.

**111- POOLE K.** Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Curr Opin Microbiol*, 4(5), Octobre (2001) : pp 500-508.

**Q**

**112- QUINTEIRA SMB.** Resistências aos antibióticos B lactâmicos em Enterobacteriaceae isoladas de águas de consumo. (1999).

**R**

**113- RAHAL K., BELOUNI R., BENSLIMANI A.** Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. *Rec de L'OMS 4e édition Algérie*. (2005) : pp 46-52.

**103- RAHAL K., BELOUNI R., TALI-MAAMAR H., BOUDOUANE M., MISSOUM M., BENSLIMANI A.** Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 17<sup>ème</sup> rapport d'évaluation, (2018).

**114- RONDINAUD EMILIE., ETIENNE RUPPÉ., SOPHIE MATHERON., JEAN-CHRISTOPHE LUCET., LAURENCE ARMAND-LEFEVRE., THE VOYAG-R STUDY GROUP.** Screening methods for intestinal carriage of multidrug-resistant Enterobacterales: interest of enrichment broth. *Journal Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 97, (2020).

**115- RUBTSOVA Y., ULYASHOVA M., BACHMANN T., SCHMID R., EGOROV A.** Multiparametric Determination of Genes and Their Point Mutations for Identification of Beta-Lactamases. *Biochemistry (Moscow)*, 75 (13), Décembre (2010) : pp 1628-1649.

## S

**116- SAÂDI H., CHAKER K., CHAKROUN M., BOUZOUITA A., CHEBIL M., FERJANI A., BOUTIBA I.** Posters : Infections génito-urinaires. *Journal Médecine et maladies infectieuses*, 49, (2019) : pp 129–S130.

**117- SADEK MUSTAFA., LAURENT POIREL., PATRICE NORDMANN.** Optimal detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producers, carbapenemase producers, polymyxin-resistant Enterobacterales, and vancomycin-resistant enterococci from stools. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 96, (2020) : pp 114919.

**118- SANDLE TIM.** *Pharmaceutical Microbiology. Medical microbiology.* (2019).

**119- SBITI MOHAMMED., KHALID LAHMADI., LHOUSSAINE LOUZI.** Profil épidémiologique des entérobactéries uro-pathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi. *Journal Pan African Médical.* Septembre (2017).

**120- SOUGAKOFF S., TRYSTRAM D.** Résistances aux  $\beta$ -lactamines. Université Pierre et Marie Curie. Service de Bactériologie-Hygiène -Pitié-Salpêtrière,(2003).

**121- STACKEBRANDT E., FREDERIKSEN W., GARRITY GM., GRIMONT PA., KÄMPFER P., MAIDEN MC., NESME X., ROSSELLÓ-MORA R., SWINGS J., TRÜPER HG.** Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species defin in bacteriology. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(3), (2002) : pp 1043-1047.

**122- STRAMPFER M., SCHOCH P., CUNHA B.** Cerebral abscess caused by *Klebsiella ozaenae*. *J. Clin. Microbiol*, 25, (1987) : pp 1553-1554.

**T**

**123- TANI BABA AHMED-KAZI., ARLET G.** Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Revue Pathologie Biologie*, 62, (2014) : pp 169–178.

**124- TARGANT H.** L'îlot de multi résistance aux antibiotiques, *Salmonella* Genomic Island 1 (SGI1) : variabilité, diffusion inter - espèces et implication dans la virulence. *Sciences agricoles. Université Claude Bernard - Lyon I. Français*, (2010).

**125- TIDRARINE SOUKAINA.** Epidémiologie des entérobactéries multi résistantes productrices de carbapénèmase à le HIT. Thèse du Doctorat en Médecine. Université Cadi Ayyad, MARREKECH, Juillet (2019) :132 pp.

**126- THOMPSON PEGGY., JONATHAN TETER., NREMT., KIMBERLY ATRUBIN.** Incidence of health care associated extended spectrum b-lactamase positive patients before and after discontinuation of contact precautions. *American Journal of Infection Control*, 48, (2020) : pp 52–55.

**127-TRANA DISCOVERY.** *Salmonella enterica* serovar typhimurium isolated from a healthy individual. *March* (2017).

**128- TSAI WAN-LIN., CHIH-HSIN HUNG., HUI-AN CHEN., JIUN-LING WANG D, I-FEI HUANG., YEE-HSUAN CHIOU., YAO-SHEN CHEN., SUSAN SHIN-JUNG LEE., WAN-YU HUNG., MING-FANG CHENG.** Extended-spectrum b-lactamase-producing *Escherichia coli* bacteremia : Comparison of pediatric and adult populations. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 51, (2018) : pp 723-731.

**U**

**130- UZUN O., HASCELIK G., LIVERMORE DM.** Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int J Antimicrob Agents*, 31(6), Mar (2008) : pp 523-600.

W

**131- WALKTY ANDREW., JAMES A., KARLOWSKY., MELANIE R. BAXTER., HEATHER J., DAVID ALEXANDER., DENICE C., DAVID BOYD., MELISSA MCCRACKEN., MICHAEL R. MULVEY., GEORGE G. ZHANEL.** Fosfomycin resistance mediated by fos genes remains rare among extended-spectrum bêta-lactamase-producing *Escherichia coli* clinical isolates recovered from the urine of patients evaluated at Canadian hospitals (CANWARD, 2007–2017). *Journal Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 96, (2020).

**131- WALTHER-RASMUSSEN J., HOIBY N.** Cefotaximases (CTX-Mases), an expanding family of extended spectrum  $\beta$ -lactamases. *Can J Microbiol*, 50(3), Mars (2004) : pp137–165.

**133- WALTHER-RASMUSSEN J., HOIBY N.** OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*, 57(3), Mars (2006) : pp373–383.

**134- WOLFF M., JOLY-GUILLOUB M., PAJOTC O.** Les carbpenemes comparative review of carbpenems. *Masson Réanimation*, 18(2), Septembre (2009) : pp199-208.

**135- Google Maps .2020.**

# *Annexes*

**Annexe 01 : Tableau :** Totale des prélèvements recueillis au niveau de différents services.

Patients hospitalisé	Nature des prélèvements						Totale
	Rectale	Perte vaginale	Buccale	Pharynx	cathéter	Plais	
Réanimation	1	1	1	1	1	1	6
Maternité	0	1	0	0	0	0	1
Pédiatre	4	0	1	0	1	0	6
Totale	5	2	2	1	2	1	13

## Annexe 02 : Questionnaire.

*Les entérobactéries productrices de  $\beta$  lactamase a spectre étendu*

N° de patient : .....

Age : .....

Sexe :  Homme  
 Femme

Etat hormonale chez la femme : .....

Etat immunitaire : .....

Traitements antibiotiques avant à l'hospitalisation :

Inconnu  
 Non  
 Oui    Nom : ..... Durée : ..... Jours.  
                   Nom : ..... Durée : ..... Jours.

Hospitalisation à l'Hôpital de Ain sefra :

Date d'admission : ..... Date de sortie : ..... Durée du séjour : ..... jours.

Service : .....

Diagnostic : .....

Au cours de cette hospitalisation, on a dépisté dans vos analyses la présence d'une BLSE positif:  Non  
 Oui    Germe : ..... Site :

Traitement antibiotique pendant l'hospitalisation:

Nom : ..... Durée : ..... Jours.  
 Nom : ..... Durée : ..... Jours.




Site de prélèvement : sonde urinaire  cathéter  Pert vaginale  sonde incubation  selle

**Annexe 03 : Tableau de résultat.**

N° Patient	Prélèvement						Résultat Mac conkey	purification	Teste Double disque	Teste synergie	Api 20E
	Urinaire	Cathéter	Pert	Selle	plaies	Sonde intubation					
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											

## Annexe 04 : Les milieux de culture.

Tableau : les compositions et utilisation du milieu de culture :

Milieu	Composition	Utilisation
	<p><b>Gélose Muller Hinton :</b></p> <p>Infusion de viande de Bœuf. 300ml</p> <p>Peptone de caséine ..... 17.5g</p> <p>Amidon de maïs ..... 1.5g</p> <p>Agar..... 10.0g</p> <p><b>PH = 7.4</b></p>	<p>Milieu relativement riche, mais qui reste un milieu de base qui permet la culture des bactéries non exigeantes.</p> <p>permet de la réalisation de l'antibiogramme standard (principale utilisation).</p>
	<p><b>Gélose Mac Conkey :</b></p> <p>Peptone ..... 20g</p> <p>Sel biliaires N°3 ..... 1g</p> <p>Cristal violet ..... 0,001g</p> <p>Lactose ..... 10g</p> <p>Rouge neutre ..... 0,05g</p> <p>Chlorure de sodium ..... 5g</p> <p>Agar ..... 15g</p> <p><b>PH = 7,1</b></p>	<p>La gélose Mac Conkey est un milieu d'isolement ordinaire, lactosé et sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeants.</p>
	<p><b>Gélose <i>Salmonella-Shigella</i> (SS) :</b></p> <p>Extrait de viande de bœuf ..... 5g/l</p> <p>Polypeptone..... 5g/l</p> <p>Sels biliaires ..... 8,5g/l</p> <p>Thiosulfate de sodium ..... 8,5g/l</p> <p>Citrate ferrique..... 1g/l</p> <p>Citrate de sodium ..... 10g/l</p> <p>Lactose ..... 10g/l</p> <p>Vert brillant ..... 0,00033g/l</p> <p>Rouge neutre 0, 025g/l</p> <p>Agar ..... 13,5g/l</p> <p><b>PH final = 7,0</b></p>	<p>Milieu sélectif permettant l'isolement d'entérobactéries.</p> <p>Il est très utilisé pour la recherche de <i>Salmonella</i> et peu pour les <i>Shigella</i> car trop sélectif</p>

Annexe 05 : Tableau de lecture de la galerie Api 20 E.

Tests	Substrats	Réactions /Enzymes	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	$\beta$ -galactosidase	Incolore	jaun
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge /Orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orange
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge /orangé
CTT	Citrate Utilisation du citrate	Vert pale /jaune		vert
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore	Dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge /Orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/ immédiat	
IND	Tryptophane	Production d'indole	Ajouter 1 goutte du réactif de James. Lire la réaction Immédiatement	

Annexe 06 : Tableau d'identification entérobactéries de Api 20E.

API20 E	V4.1	ON PG	AD H	LD C	ODC	CI T	H2 S	UR E	TDA	IND	VP	GEL	GL U	MA N	IN O	SO R	RH A	SA C	ME L	A M Y	AR A	OX
<i>Buttiauxella agrestis</i>		100	0	0	85	25	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	99	0	92	99	100	0
<i>Cedecea davisae</i>		99	89	0	99	75	0	0	0	0	89	0	100	100	10	0	0	100	0	100	1	0
<i>Cedecea lapagei</i>		99	99	0	0	75	0	0	0	0	90	0	100	99	0	0	0	0	1	100	1	0
<i>Citrobacter braakii</i>		50	45	0	99	75	81	1	0	4	0	0	100	100	1	100	1	91	99	99	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>		90	24	0	0	75	75	1	0	1	0	0	100	99	25	99	99	99	82	40	99	0
<i>Citrobacter koseri/amalonicus</i>		99	75	0	100	97	0	1	0	99	0	0	100	100	25	99	99	1	1	98	99	0
<i>Citrobacter koseri/farmeri</i>		99	2	0	100	25	0	1	0	99	0	0	100	100	1	99	99	99	80	99	99	0
<i>Citrobacter youngae</i>		100	50	0	1	80	80	0	0	1	0	0	100	100	0	95	100	1	0	25	100	0
<i>Edwardsiella hoshinae</i>		0	0	100	99	50	94	0	0	99	0	0	100	100	0	0	1	100	0	0	1	0
<i>Edwardsiella tarda</i>		0	0	100	99	1	75	0	0	99	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>		99	0	99	98	82	0	1	0	0	85	0	99	99	9	99	99	99	99	99	99	0
<i>Enterobacter amnigenus 1</i>		99	25	0	99	40	0	0	0	0	75	0	100	100	0	1	100	99	99	99	99	0
<i>Enterobacter amnigenus 2</i>		99	80	0	99	80	0	0	0	0	75	0	100	100	0	99	100	1	99	99	99	0
<i>Enterobacter asburiae</i>		100	25	0	99	80	0	0	0	0	10	0	100	99	25	100	0	99	0	100	100	0
<i>Enterobacter cancerogenus</i>		100	75	0	99	99	0	0	0	0	89	0	100	100	0	1	100	1	1	100	100	0
<i>Enterobacter cloacae</i>		98	82	1	92	90	0	1	0	0	85	0	99	99	12	90	85	96	90	99	99	0
<i>Enterobacter gergoviae</i>		99	0	32	100	75	0	99	0	0	90	0	100	99	23	1	100	99	100	99	100	0
<i>Enterobacter intermedius</i>		99	0	0	99	1	0	0	0	0	2	0	100	97	0	88	99	40	100	99	99	0
<i>Enterobacter sakazakii</i>		100	96	0	91	94	0	1	0	25	91	10	100	100	7	8	99	99	99	99	99	0
<i>Escherichia coli 1</i>		90	1	74	70	0	1	3	0	89	0	0	99	98	1	91	82	36	75	3	99	0
<i>Escherichia coli 2</i>		26	1	45	20	0	1	1	0	50	0	0	99	90	1	42	30	3	3	1	70	0
<i>Escherichia fergusonii</i>		96	1	99	100	1	0	0	0	99	0	0	100	99	1	0	87	0	1	99	99	0
<i>Escherichia hermannii</i>		100	0	1	100	1	0	0	0	99	0	0	100	100	0	0	99	25	0	0	0	0
<i>Escherichia vulneris</i>		100	30	50	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	95	7	95	95	99	0
<i>Ewingella americana</i>		98	0	0	0	75	0	0	0	0	95	1	99	99	0	0	1	0	1	50	1	0
<i>Hafnia alvei 1</i>		75	0	99	98	50	0	10	0	0	50	0	99	99	0	1	99	0	0	25	99	0
<i>Hafnia alvei 2</i>		50	0	99	99	1	0	1	0	0	10	0	99	98	0	1	1	1	0	0	1	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>		99	0	80	0	89	0	78	0	99	80	0	100	100	9	10	99	99	100	100	100	0
<i>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae</i>		94	18	25	1	18	0	1	0	0	1	0	99	96	57	66	58	20	80	97	85	0
<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>		99	0	73	0	86	0	75	0	0	90	0	100	99	9	99	99	99	99	99	99	0
<i>Klebsiella pneumoniae ssp rhinoscleromatis</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	9	90	75	75	1	99	10	0
<i>Kluyvera spp</i>		95	0	25	99	60	0	0	0	80	0	0	100	99	0	25	93	89	99	99	99	0
<i>Leclercia adecarboxylata</i>		99	0	0	0	0	0	1	0	99	0	1	100	99	0	2	100	66	99	99	100	0
<i>Moellerella wisconsensis</i>		97	0	0	0	40	0	0	0	15	1	0	100	1	0	0	0	100	99	0	0	0
<i>Morganella morganii</i>		1	0	10	98	1	1	99	93	99	0	0	99	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pantoea spp 1</i>		85	1	0	0	13	0	1	0	1	9	1	100	99	1	26	1	98	26	59	61	0
<i>Pantoea spp 2</i>		99	1	0	0	99	0	1	0	53	62	4	100	99	36	82	90	98	81	99	99	0
<i>Pantoea spp 3</i>		99	1	0	0	21	0	1	0	1	86	15	100	99	34	1	97	93	23	65	97	0
<i>Pantoea spp 4</i>		86	1	0	0	29	0	1	0	59	1	1	99	100	10	32	99	72	89	99	99	0
<i>Proteus mirabilis</i>		1	0	0	99	50	75	99	98	1	1	82	98	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Proteus penneri</i>		1	0	0	0	1	20	100	99	0	0	50	99	0	0	0	0	100	0	1	0	0
<i>Proteus vulgaris group</i>		1	0	0	0	12	83	99	99	92	0	74	99	1	1	0	1	89	0	66	1	0
<i>Providencia alcalifaciens/rustigianii</i>		0	0	0	0	80	0	0	100	99	0	0	99	1	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Providencia rettgeri</i>		1	1	0	0	74	0	99	99	90	0	0	98	82	78	1	50	25	0	40	1	0
<i>Providencia stuartii</i>		1	0	0	0	85	0	30	98	95	0	0	98	3	80	0	0	15	0	0	0	0
<i>Rahnella aquatilis</i>		1	0	0	0	50	0	0	1	0	99	0	100	100	0	98	99	10	97	10	98	0

	0	0												0	0			0	0			
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1	0	0	99	9	99	0	85	0	10	65	0	10	100	9	100	10	10	100	10	10	0
<i>Raoultella terrigena</i>	1	0	0	99	6	52	0	0	0	0	75	0	99	99	9	99	99	10	100	10	99	0
<i>Salmonella choleraesuis ssp arizonae</i>	98	75	97	9	8	75	99	0	0	1	0	0	10	99	0	99	99	1	78	0	99	0
<i>Salmonella choleraesuis ssp choleraesuis</i>	0	15	99	99	6	64	0	0	0	0	0	0	10	99	0	98	99	0	20	0	0	0
<i>Salmonella ser. Gallinarum</i>	0	1	100	1	0	25	0	0	0	0	0	0	10	10	0	0	1	0	0	0	10	0

API 20 E	V4.1	ON PG	AD H	LD C	O DC	CI T	H2 S	UR E	TD A	IND	VP	GE L	GLU	MA N	IN O	SO R	RH A	SA C	MEL	AM Y	A R A	OX
<i>Salmonella ser. Paratyphi A</i>		0	5	0	99	0	1	0	0	0	0	0	100	99	0	99	98	0	96	0	99	0
<i>Salmonella ser. Pullorum</i>		0	1	75	10	0	85	0	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0	75	0
<i>Salmonella typhi</i>		0	1	99	0	0	8	0	0	0	0	0	100	99	0	99	0	0	99	0	0	0
<i>Salmonella spp</i>		1	56	82	93	65	83	0	0	1	0	1	99	100	40	99	86	1	90	1	99	1
<i>Serratiafificaria</i>		99	0	0	0	10	0	0	0	0	40	90	100	100	50	99	74	99	99	10	99	0
<i>Serratiafonticola</i>		99	0	7	99	75	0	0	0	0	0	0	100	100	97	10	99	30	99	99	99	0
<i>Serratia liquefaciens</i>		95	1	78	98	80	0	2	0	0	59	65	100	99	80	98	2	99	72	97	97	0
<i>Serratiamarcescens</i>		94	0	95	95	96	0	25	0	1	70	87	100	99	85	98	1	99	68	97	25	0
<i>Serratia odorifera1</i>		95	0	95	99	95	0	0	0	99	50	99	100	99	99	99	99	99	99	99	99	0
<i>Serratia odorifera2</i>		95	0	96	1	95	0	0	0	99	50	99	100	99	99	99	99	1	99	99	95	0
<i>Serratia plymuthica</i>		99	0	0	0	65	0	0	0	0	65	50	100	90	70	70	1	99	85	98	98	0
<i>Serratia rubidaea</i>		99	0	3	0	92	0	1	0	0	71	82	99	99	75	1	3	99	95	99	99	0
<i>Shigella spp</i>		1	0	0	1	0	0	0	0	29	0	0	99	63	0	7	7	1	20	0	50	0
<i>Shigella sonnei</i>		96	0	0	93	0	0	0	0	0	0	0	99	99	0	1	75	1	1	0	99	0
<i>Yersinia enterocolitica</i>		80	0	0	90	0	0	98	0	50	5	0	99	99	25	98	1	99	4	75	75	0
<i>Yersinia frederiksenii/intermedia</i>		99	0	0	75	1	0	99	0	99	1	0	100	99	25	99	99	99	1	99	99	0
<i>Yersinia kristensenii</i>		80	0	0	80	0	0	99	0	97	0	0	100	99	10	99	0	0	0	99	99	0
<i>Yersinia pestis</i>		68	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	99	99	0	70	0	0	0	30	30	0
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>		98	0	0	0	1	0	99	0	0	0	0	99	97	0	0	75	0	50	25	50	0
<i>Aeromonas hydrophila gr. 1</i>		98	90	2	5	1	25	0	0	85	25	90	99	99	1	3	5	97	1	75	75	100
<i>Aeromonas hydrophila gr. 2</i>		99	97	80	1	80	0	0	0	85	80	97	97	99	9	9	1	80	1	75	5	100
<i>Aeromonas salmonicida ssp salmonicida</i>		1	60	1	0	0	0	0	0	1	0	75	50	54	0	0	0	0	0	1	0	100
<i>Grimontia hollisae</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	94	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Photobacterium damselae</i>		1	99	75	0	1	0	98	0	0	10	1	50	0	0	0	0	1	0	0	0	100
<i>Plesiomonas shigelloides</i>		95	99	10	0	10	0	0	0	100	0	0	99	0	99	0	0	0	0	0	0	100
<i>Vibrio alginolyticus</i>		0	0	98	75	60	0	1	0	100	10	75	99	100	0	1	0	10	0	10	1	100
<i>Vibrio cholerae</i>		98	1	94	97	75	0	0	0	99	58	92	98	98	0	0	0	94	0	5	0	100
<i>Vibrio fluvialis</i>		95	99	0	0	1	0	0	0	80	0	75	75	80	0	1	0	75	0	36	75	100
<i>Vibrio mimicus</i>		99	0	99	99	50	0	0	0	99	1	99	99	99	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		0	0	10	0	99	50	0	1	0	100	1	75	100	99	0	0	1	1	0	12	50
<i>Vibrio vulnificus</i>		99	0	91	90	25	0	0	0	99	1	99	99	75	0	0	0	1	0	90	0	99
<i>Pasteurella aerogenes</i>		99	0	0	80	0	0	99	0	0	0	0	99	0	97	0	1	99	0	0	75	75
<i>Pasteurella multocida 1</i>		4	0	0	2	5	0	0	0	99	0	0	29	1	0	1	0	75	0	0	0	99
<i>Pasteurella multocida 2</i>		7	0	0	4	5	0	0	0	99	0	0	44	99	0	99	0	99	0	0	0	89
<i>Pasteurella pneumotropica/ Mannheimia haemolytica</i>		60	0	1	1	0	0	25	0	15	7	3	35	12	12	12	1	35	1	2	1	80
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>		0	0	0	0	51	0	1	0	0	5	5	99	0	0	0	0	0	99	1	99	0
<i>Bordetella/Alcaligenes/Moraxella spp</i>		0	0	0	0	52	0	14	1	0	25	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95
<i>Burkholderia cepacia</i>		50	0	25	1	78	0	0	0	0	1	43	60	1	0	0	0	13	0	7	20	90
<i>Chromobacterium violaceum</i>		0	99	0	0	75	0	0	0	14	0	99	99	0	0	0	0	10	0	0	0	99
<i>Chryseobacterium indologenes</i>		5	0	0	0	12	0	90	0	75	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>		77	0	0	0	20	0	1	0	85	0	90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99
<i>Eikenella corrodens</i>		0	0	75	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Myroides/Chryseobacterium indologenes</i>		0	0	0	0	50	0	75	0	0	1	75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99
<i>Ochrobactrum anthropi</i>		15	0	0	0	30	0	25	1	0	15	0	1	0	0	0	0	0	0	0	10	90
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0	89	0	0	92	0	25	0	0	1	75	50	0	0	0	0	1	10	1	25	97
<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>		0	75	0	0	75	0	0	0	0	10	27	25	0	0	0	0	0	25	1	20	99
<i>Pseudomonas luteola</i>		86	75	0	0	94	0	0	0	0	25	13	84	0	1	0	1	1	15	1	85	0
<i>Pseudomonas oryzae/habitans</i>		0	0	0	0	89	0	0	0	0	25	1	10	0	1	0	1	0	10	0	45	0
<i>Non-fermenter spp</i>		1	1	0	0	37	0	1	0	0	15	9	9	0	0	0	1	1	1	1	1	93
<i>Shewanella putrefaciens group</i>		0	0	0	80	75	75	1	0	0	0	75	1	0	0	0	0	1	0	0	2	99
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		7	0	75	1	75	1	0	0	0	0	90	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1