



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-



Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

**Résistance bactérienne aux antibiotiques:
Facteurs favorisant et évaluation de la menace**

Présenté par :

BOUALLEG Asma

LIMAMI Maroua

Date de soutenance : 14/ 06 / 2022

Devant le jury composé de:

Dr. BOUKOUCHA Mourad

MCA Univ .Tébessa

Président

Dr. BENHADJ Mabrouka

MCA Univ. Tébessa

Examinatrice

Dr. MENASRIA Taha

MCA Univ. Tébessa

Rapporteur

Année universitaire : 2021 / 2022



Remerciement

Avant tout, nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la patience et la force de vouloir et pouvoir continuer surtout dans les moments les plus difficiles, pour la réalisation de ce modeste travail.

Tout d'abord, nous remercions notre encadrant monsieur Dr MENASRIA Taha, qui a accepté avec toute modestie de nous encadrer. Nous lui remercions pour son disponibilité, sa patience, ses précieux conseils et son soutien, la confiance qu'il nous a accordé et surtout pour ses très grandes qualités humaines, durant la réalisation de ce mémoire. Nous garderons un bon souvenir de sa gentillesse et de sa bienveillance. Qu'il trouve ici l'expression de notre plus profond respect et nos profondes gratitudees.

Nos remerciements s'étendent également à Dr BOUKOUCHA Mourad pour ses conseils, son aide, ainsi que pour sa patience et son esprit responsable, et pour avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de soutenance, qu'il trouve ici l'expression de notre profonde et sincère reconnaissance.

Nous tenons également à remercier Dr. BENHADJ Mabrouka, Maître de conférences à l'Université de Tébessa, de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont également à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à ;

*A mon très cher père **Abdelkrim** « que dieu aie son âme »*

*Et particulièrement à cher maman **Houria**. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne longue vie et te protège pour moi.*

*A mon très cher frère **Tarek***

Je te souhaite une vie pleine de bonheur, santé et réussite.

*A mes très chères sœurs : **Hanane** et **Hind***

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et surtout de santé.

*A ma jumelle et mon cher binôme **Maroua**, merci de partager cette merveilleuse aventure avec moi, Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité*

*A mes chères amies : **Nesrin** et **Ikram**, merci Au souvenir des moments qu'on a passé ensemble.*

A tous ceux que j'aime, et à tous ceux qui m'aiment...

Asma

Dédicace

A ma mère ChahraZed,

Source inépuisable de tendresse, Ta prière et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je dise, je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon père Kamel,

Aucun mot ne pourrait exprimer réellement votre juste valeur. Votre soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Grace à toi papa, j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais vous remercier pour les efforts et les sacrifices et surtout pour le temps que vous m'avez accordé.

A mon frère Walid, qui m'a aidé et encouragé lors de la réalisation de ce travail.

A amine, Anouar, Zakaria et mes sœurs Ibtissem, Meriem et Safa, qu'ils trouvent l'expression de mes grands attachement et le témoignage de mes immenses affections, en leurs souhaitant la réussite et le bonheur.

A mon beau frère et mes belles sœurs, que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A mes nièces et mes neveux, votre enthousiasme, vos sourires ont apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Merci pour tous les moments passés et à venir. Je vous aime.

Sans oublier Asma, une chère amie avant d'être binôme, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce mémoire. Qu'Allah préserve notre amitié.

A tous mes amis et surtout à Raounak pour sa gentillesse et son écoute ; les gens que j'aime, et qui ont cru en moi

Maroua

ملخص

وصلت البكتيريا المسببة للأمراض إلى مستويات تنذر بالخطر من المقاومة للعديد من المضادات الحيوية. تظهر آليات مقاومة جديدة وتنتشر والجزائر، مثل دول أخرى في العالم، في مرحلة انتقال وبائي. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم المعرفة حول المقاومة البكتيرية واستخدام المضادات الحيوية، تقدير مدى انتشار استهلاك هذه الجزيئات على مستوى مدينة تبسة، وتحليل مقاومة البكتيريا المعوية على المستوى الوطني. الأوبئة، آليات المقاومة البكتيرية، وكذلك المصادر المحتملة لانتقال المقاومة. من بين 207 طالبًا شملهم الاستطلاع، أفاد 78.26% أنهم تناولوا المضادات الحيوية مع 6.76% و 32.85% من المستجيبين أبلغوا بشكل سلبي عن احترام جرعة ومدة العلاج، على التوالي. بالنسبة للتطبيب الذاتي، استخدمه 66.67% من الطلاب ولم يقر 56% من السكان بإجراء اختبارات لمعرفة مصدر العدوى. أعطت دراسة بيانات الصيدلية لمحة عامة عن المضادات الحيوية الأكثر استهلاكًا، والتي جاء منها الأموكسيسيلين مع حمض الكلافولانيك في المرتبة الأولى بنسبة 22.72% و 20.80% على التوالي. أظهر تحليل البيانات المنشورة بين عامي 2010-2021، مع التركيز على معدل الانتشار، وكذلك معدلات مقاومة البكتيريا المعوية، لاحظنا توزيعًا غير متكافئ وغير متجانس لعدد دراسات مع اتجاه متزايد ومركز للبحث في شمال ووسط البلاد. بناءً على 107 مقالًا تم تحليلها، لوحظ أن نسبة انتشار *Escherichia coli* من مصدر مشفى كانت أكثر من 35.20%. تم الإبلاغ عن مقاومة الجنتاميسين والأموكسيسيلين ومزيج الأموكسيسيلين وحمض الكلافولانيك في العديد من الدراسات، هذه المقاومة محمولة على البلازميد مع انتشار هائل لأنزيمات CTX-M و TE و SHV. لم يُظهر التحقيق في مقاومة البكتيريا في الجزائر تطورًا في تواتر ظهور البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية بمرور الوقت فحسب، بل أظهر أيضًا تطورًا لهذه السلالات المقاومة نحو أنواع مختلفة من المقاومة المتعددة.

الكلمات المفتاحية. البكتيريا المعوية، مضاد حيوي، الجزائر، تبسة، استهلاك، مقاومة، CTX-M، أموكسيسيلين.

Résumé

Les bactéries pathogènes ont atteint des niveaux alarmants de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. De nouveaux mécanismes de résistance apparaissent et se propagent et l'Algérie, comme les autres pays du monde se trouve en phase de transition épidémiologique. L'objectif de cette étude est d'évaluer les connaissances sur la résistance bactérienne et l'usage des antibiotiques, d'estimer la prévalence de la consommation de ces molécules au niveau de la ville de Tébessa, et d'analyser la résistance des entérobactéries au niveau national portant sur l'épidémiologie, les mécanismes de résistances bactériennes, ainsi que les sources possibles de transmission de ces résistances. Sur les 207 étudiants questionnés, 78.26% ont déclaré avoir pris des antibiotiques avec 6,76% et 32,85% des enquêtés ont rapporté négativement au respect de la dose et la durée du traitement, respectivement. Pour l'automédication, 66.67% d'étudiants y ont eu recours et 56% de la population n'ont pas réalisé des tests afin de savoir l'origine de l'infection. L'étude des données des pharmacies a donné un aperçu sur les antibiotiques les plus consommés dont l'Amoxicilline et l'association avec l'acide clavulanique ont arrivé en tête avec respectivement 22.72% et 20.80%. L'analyse des données publiées entre 2010-2021, en se focalisant sur la prévalence, ainsi que les taux des résistances des entérobactéries, a montré une distribution non équitable et hétérogène du nombre des études avec une tendance d'augmentation et de concentration des recherches évaluées par paire au Nord et Centre du pays. Sur la base de 107 articles analysés, une prédominance d'*Escherichia coli* d'origine hospitalière a été notée avec plus de 35.20%. Des résistances à la Gentamicine, l'Amoxicilline et l'association Amoxicilline et acide clavulanique ont été signalées dans des nombreuses recherches dont ces résistances ont pour support les plasmides avec une dissémination massive des enzymes de type CTX-M, TEM et SHV. L'investigation sur les résistances bactériennes en Algérie a montré non seulement une évolution de la fréquence d'apparition des bactéries résistantes aux antibiotiques dans le temps, mais aussi une évolution de ces souches résistantes vers des différents types de multi-résistances.

Mots clés. Entérobactérie, Antibiotique, Algérie, Tébessa, Consommation, Résistance, CTX-M, Amoxicilline

Abstract

Pathogenic bacteria have reached alarming levels of resistance to many antibiotics. New resistance mechanisms are appearing/spreading and Algeria, like other countries in the world, is in a phase of epidemiological transition. The objective of this study is to (i) evaluate knowledge on bacterial resistance and the use of antibiotics, (ii) to estimate the prevalence of the consumption of these molecules at the level of the city of Tebessa, and (iii) to analyze the resistance of enterobacteria at the national level on epidemiology, bacterial resistance mechanisms, as well as possible sources of resistance transmission. Of the 207 students surveyed, 78.26% reported having taken antibiotics with 6.76% and 32.85% of respondents reporting negatively on dose and duration of treatment, respectively. For self-medication, 66.67% of students have used antibiotics and 56% of the population did not perform tests to find out the origin of the infection. The study of pharmacy data provided an overview of the most consumed antibiotics, of which Amoxicillin and the combination with clavulanic acid came first with 22.72% and 20.80% respectively. The analysis of data published between 2010-2021, focusing on the prevalence, as well as the rates of resistance of Enterobacteria, showed an unequal and heterogeneous distribution of the number of studies with an increasing trend and concentration of research in the North and Center of the country. Based on 107 articles analyzed, a predominance of *Escherichia coli* of hospital origin was noted with more than 37.57%. Resistance to Gentamicin, Amoxicillin and the combination of Amoxicillin and clavulanic acid have been reported in numerous studies in which these resistances are supported by plasmids with massive dissemination of enzymes of the CTX-M, TEM and SHV type. The investigation on bacterial resistance in Algeria has shown not only an evolution in the frequency of appearance of bacteria resistant to antibiotics over time, but also an evolution of these resistant strains towards different types of multi-resistance.

Key words. Enterobacteriaceae, Antibiotic, Algeria, Tebessa, Consumption, Resistance, CTX-M, Amoxicillin.

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Structure et aspect microscopique des entérobactéries	8
2	Aspect macroscopique de quelques colonies des entérobactéries	10
3	Différents modes d'action des antibiotiques	20
4	Chronologie des résistances.	26
5	Mécanismes de transfert génétique.	31
6	Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques.	32
7	Détermination de la CMI par macrodilution en milieu liquide	36
8	Test en gradient de diffusion et méthode de diffusion sur disque Error! Bookmark not defined.	37
9	Classification moléculaire (Ambler) et fonctionnelle (Bush-Jacoby-Medeiros) des betalactamase	45
10	Inactivation enzymatique des aminosides	52
11	Les différentes périodes de collecte des données	59
12	Diagramme de flux de la sélection des publications et données systématiques de la littérature sur l'étude de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques en Algérie	62
13	La répartition des étudiants selon le sexe, le niveau et la spécialité.	64
14	La répartition des étudiants selon le sexe et le niveau.	65
15	Boite à moustache représentant la distribution des valeurs des paramètres sociodémographiques des étudiants enquêtés	66
16	La prise d'antibiotique et le respect de la dose et la durée	67
17	Liste des antibiotiques cités par molécules actives (A) et familles (B).	68
18	La prise d'antibiotiques en automédication et sa fréquence	68
19	Fréquence de réalisation des tests de diagnostic	69
20	Connaissances sur la résistance bactérienne, la consommation des antibiotiques et leur l'utilité à titre préventif	71
21	Recours aux autres alternatives thérapeutiques pour traiter une infection	71
22	Les différentes voies d'administration existantes	73
23	Distribution quantitative des différents antibiotiques consommés en milieu hospitalier (A) et en ville (B)	74
24	Fréquence (%) et quantité en unité d'ATBs livrés (Hôpital et Ville)	75
25	Distribution et nombre de publications analysées par année	76
26	Distribution des études sur la résistance des entérobactéries par Région	77
27	Répartition des études sur la résistance des entérobactéries par Wilaya	77
28	Distribution des données en fonction des genres bactériens identifiés	87
29	Distribution des données en fonction des espèces identifiées	79
30	Support génétique de la résistance chez les entérobactéries	81
31	Origines ou sources possibles des entérobactéries résistantes signalées à l'échelle nationale	83

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Caractères biochimiques de quelques entérobactéries	13
2	Classification de la famille Enterobacteriaceae et leurs différents genres	17
3	Antibiotiques et mécanismes de résistance	24
4	Liste prioritaire de l'OMS pour les bactéries multirésistantes	27
5	Répartition des entérobactéries en fonction de leur profil de résistance naturelle	42
6	Classification des bêta-lactamases selon Ambler	44
7	La répartition des réponses sur les connaissances de l'utilisation d'antibiotiques.	70
8	Liste des antibiotiques recensés	72
9	Phénotype de résistance des entérobactéries	79
10	Génotype de résistance des entérobactéries	81

Liste des abréviations

- AAC** : Les aminoglycosides acétyltransférases
- AACQ** : Contrôle de qualité et sécurité alimentaire
- AMC** : L'acétylméthylcarbinol
- AME** : Les enzymes-modifiant les aminosides
- ANT** : Les aminoglycosides nucléotidyltransférases
- APH** : Les aminoglycosides phosphotransférases
- BC** : Biochimie
- BGN** : Bactéries à Gram négatif
- BLSE** : Des bêta-lactamase à spectre étendu
- BM** : Biologie moléculaire
- BT** : Biotechnologie
- BTV** : Biotechnologie végétale
- BV** : Biologie végétale
- C1G** : Céphalosporine de 1^{ème} génération
- C3G** : Céphalosporine de 3^{ème} génération
- CMI** : La concentration minimale inhibitrice
- CS** : Citrate de Simmons
- CTX-M** : Cefotaximase-Munich
- DDH** : Hybridation ADN-ADN
- DHPS** : Dihydroptéroate synthétase
- EC** : Écologie
- ECA** : Enterobacteriaceae Common Antigen
- EPA** : Écophysiologie animale
- EPV** : Écophysiologie végétale
- GES**: Guyana extended spectrum β -lactamas
- IMP**: Imipénémase
- LPS**: Lipopolysaccharide
- MALDI-TOF**: Matrix Assisted Laser Désorption Ionisation-Time-of-Flight
- MB**: Microbiologie
- MBL**: Métallo- β -lactamases
- MDR** : Bactéries sensibles et multirésistantes

MLSA : Multilocus Sequence Analysis
MLVA: Multiple Loci VNTR Analysis
NDM: New Delhi métallo β -lactamase
ONPG: Ortho NitroPhenyl Galactoside
OXA : Oxacillinases
PCR : Polymérase Chain Reaction
PHARMACO : Pharmacologie
PLP : Protéine de Liaison à la Pénicilline
PMQR : Plasmid-Mediated Quinolones Resistance
QRDR : Quinolone Resistance Determining Region
RND : Resistance-Nodulation-Cell Division
SHV : Sulfhydryl Variable
TDA : Tryptophane désaminase
TEM : Type Temoneira
TOXICO : Toxicologie
TRI : TEM Résistantes aux Inhibiteurs
VEB: Vietnam extended spectrum β -lactamase
VIM : Verona Imipénémase
VNTR : Une répétition en tandem à nombre variable
VP : Réaction de Voges-Proskauer
WGS : Séquençage du génome complet

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Partie 1. Synthèse bibliographique	
Chapitre 1 ‘Généralités sur les entérobactéries’	
1. Entérobactéries	7
1.1. Historique	7
1.2. Définition et caractères généraux	7
1.2.1. Caractères antigéniques	8
1.2.2. Mise en culture et caractères physiologiques des entérobactéries	9
1.3. Identification des entérobactéries	10
1.3.1. Identification biochimique	10
1.3.2. Identification moléculaire	14
1.4. Taxonomie	15
Chapitre 2 ‘Antibiotiques & Antibio-résistance’	
1. Historique	19
2. Définition	19
3. Classification des antibiotiques	20
3.1. Mécanisme d'action	20
3.1.1. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de peptidoglycane	20
3.1.2. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines	21
3.1.3. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la membrane	22
3.1.4. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques et de leurs précurseurs	23
3.1.5. Antibiotiques inhibiteurs de voies métaboliques :	23
4. Résistance bactérienne aux antibiotiques	25
4.1. Origine de la résistance	25
4.2. La résistance acquise	28
4.2.1. La résistance chromosomique	29
4.2.2. La résistance extra-chromosomique	29
4.2.3. La résistance croisée	30
5. Mécanisme de la résistance bactérienne	31
5.1. Modifications de la molécule antibiotique	32
5.2. Diminution de la pénétration et de l'efflux d'antibiotiques	33
6. Étude de la résistance bactérienne in vitro	34
6.1. Méthodes phénotypiques	34
6.2. Automatisation de l'antibiogramme	37
6.3. Méthodes moléculaires	38

Chapitre 3 ‘Résistance aux ATB chez les entérobactéries’	
1. Résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries	41
1.1. Les β -lactamines	41
1.2. Mécanismes de résistance aux β -lactamines	42
A. Résistance non enzymatique	42
B. Résistance enzymatique	43
B.1. Les BLSE	45
B.1.1.Types des BLSE	46
•BLSE de type TEM	46
•BLSE de type CTX-M (Cefotaximase-Munich)	46
•BLSE de type SHV (Sulphydryl Variable)	47
B.2. Les Céphalosporines (Céphalosporinases de classe C AmpC β -lactamases)	48
B.3. Les Carbapénèmes	50
1.2. Mécanismes de résistance des entérobactéries aux aminosides	50
1.2.1. Réduction de l’accumulation intra-cytoplasmique	51
1.2.2. Modification de la cible ribosomale	51
1.2.3. Les enzymes-modifiant les aminosides (AME)	51
1.3. Mécanismes de résistance aux quinolones et fluoroquinolones	52
1.3.1. Support génétique chromosomique	52
A. Perméabilité membranaire réduite	52
1.3.2. Support génétique plasmidique	54
1.4. Autres antibiotiques	55
Partie 2. Méthodologie	
1.1. Population enquêtée	60
1.2. Matériel et recueil de données	61
1.3. Analyse de données	61
2.1 Matériel et recueil de données	61
2.2. Analyse des données	63
3.1. Note	63
3.2. Collecte et sélection des sources de données	64
3.3. Analyse de données	64
Résultats	66
Discussion	90
Conclusion et perspectives	96
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

L'humanité est en proie à de nombreux types d'infections et de maladies causées par des micro-organismes (**Etebu et Ukpog, 2016**). Les bactéries pathogènes pour l'homme font encore des ravages. En 1995, Les maladies infectieuses ont été responsables d'un tiers (17 millions de personnes) des décès dans le monde (**Zaouia, 2020**) mais la découverte de la pénicilline en 1928 par Alexander Fleming à partir d'un champignon et les découvertes ultérieures de nombreux autres antibiotiques comme la tétracycline, la streptomycine, le chloramphénicol, etc. a été une des principales révolutions scientifiques du 20^{ème} siècle. Grâce à ces médicaments « miracles » de nombreuses maladies bactériennes mortelles sont devenues curables (**Gras, 2019**).

Ceci n'est plus vrai aujourd'hui car on a pris pleinement conscience de la capacité des bactéries à développer facilement et rapidement des mécanismes de résistance nombreux et variés (**Mesaros et al. 2005**). L'augmentation de cette résistance découle d'une multitude de facteurs, notamment l'utilisation généralisée et parfois inappropriée des antimicrobiens, l'utilisation intensive de ces agents comme activateurs de croissance dans l'alimentation animale et, avec l'augmentation des voyages régionaux et internationaux, la facilité relative avec laquelle les bactéries résistantes aux antimicrobiens franchissent les barrières géographiques (**Lowy, 2003**). En outre, l'exposition des bactéries aux antibiotiques a également conduit au développement des résistances aux différents agents utilisés (**Kakoullis et al. 2021**).

Les premiers cas d'émergence massive de souches résistantes ont été observés au milieu du 20^{ème} siècle, et depuis lors, des cas de résistance multiple aux antibiotiques ont été signalés dans le monde entier (**Perović et al.2018**). Jusqu'à maintenant, cette évolution était compensée par la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques, mais celle-ci s'est considérablement amenuisée laissant le risque de voir apparaître une ère dite «post-antibiotique».(**Armand-Lefèvre, 2017**) comme l'a déclaré le directeur adjoint de l'organisation mondiale de la santé (OMS) (Dr Keiji Fukuda) : "À moins que les nombreux acteurs concernés n'agissent de toute urgence, de manière coordonnée, le monde se dirige vers une ère post-antibiotique, où des infections courantes et des plaies mineures traitées depuis des décennies pourraient tuer à nouveau." (**OMS, 2014**).

Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries. Ce sont des bacilles à Gram négatif aéro-anaérobies, hôtes habituels du tube digestif de l'homme et des mammifères (**Maamar et al. 2019**). Ces bactéries occupent une place importante en pathologie humaine et la majorité des germes isolés au laboratoire de biologie médicale (**Paterson, 2006**). Elles constituent la famille à l'origine des infections les plus fréquentes et

dont la mortalité est la plus élevée (**Maamar et al.2019**). Elles sont responsables de nombreuses infections nosocomiales et communautaires notamment ; les infections urinaires, les infections respiratoires et septicémies (**Baba Ahmed et al.2014**). Ces bactéries sont les plus redoutables, car elles sont productrices de β -lactamases et possèdent d'autres mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques. La concentration importante de ces germes dans le tube digestif, favorise l'échange et la dissémination des gènes de résistance (**Ebongue et al.2015**).

De nombreux pays souffrent de ce phénomène de résistance bactérienne, et l'Algérie n'est pas à l'abri de ce problème majeur de santé publique. En effet, le Réseau algérien sur la résistance aux antimicrobiens rapporte pour l'année 2016 des taux de bactéries multirésistantes par espèce qui montrent que pratiquement une entérobactérie sur trois, soit 30,39% est productrices d'une β -lactamase à spectre élargi (BLSE) (**resistancecontrol, 2018**).

En Algérie, dans un contexte caractérisé par un mésusage des antibiotiques, peu de données sont disponibles sur la consommation hospitalière et au niveau communautaire des antibiotiques ; parallèlement des données récentes sur les résistances aux antibiotiques indiquent une situation inquiétante. Face à cette situation, une réflexion sur une meilleure utilisation des antibiotiques et la mise en place d'une politique pertinente de la surveillance de la résistance, s'est imposée afin de limiter la circulation des souches multirésistantes. Ce qui a incité à mener une étude portant principalement sur (i) l'analyse de l'état des lieux et la distribution des résistances bactériennes au niveau national (ii) décrire les causes possibles et les facteurs de la contamination de cette résistance (origine et source possible de résistance).

Objectifs spécifiques :

- ❖ Évaluer les connaissances des étudiants (Sciences biologiques, université de Tébessa) sur la résistance bactérienne et sur leurs habitudes de l'usage des antibiotiques.
 - ❖ Estimer la prévalence de consommation des antibiotiques pendant un an au niveau de la ville de Tébessa.
 - ❖ Analyser et déterminer la résistance des entérobactéries en Algérie, les origines et les sources de cette résistance.
- Dans *la première partie* de ce mémoire, nous avons présenté une synthèse bibliographique en trois chapitres avec présentation du contexte du travail :

- Le premier chapitre présente des généralités sur les entérobactéries et leur taxonomie; le second, nous rappellerons quelques notions importantes sur les antibiotiques et l'antibiorésistance. Et un dernier, portera sur la résistance aux antibiotiques chez un groupe sélectionné (Entérobactéries).
- La *deuxième partie* est celle de la méthodologie qui représente l'ossature de ce travail, présentant les travaux par un détail méthodologique expliquant les tests et protocoles utilisés pour atteindre les objectifs de notre travail qui consiste à réaliser :
 - Une enquête qui a lieu sur la base d'un questionnaire,
 - Un recensement des données sur la consommation des antibiotiques au milieu hospitalier, et chez les pharmacies de la ville de Tébessa,
 - Une analyse systématique sur la distribution et la prévalence des résistances bactériennes à l'échelle nationale en se basant sur les données recueillies à partir des études scientifiques publiées sur la résistance chez les entérobactéries durant la période allant du 2010 au 2021.
- Pour finir, une discussion des résultats a été apportée avec une conclusion et perspectives des travaux

Partie 1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

‘Généralités sur les entérobactéries’

1. Entérobactéries

1.1. Historique

La naissance des Enterobacteriaceae (famille) débute par la proposition d'Otto RAHN en 1937, lorsqu'il proposa le genre d'*Enterobacter* qui regroupe les microorganismes présentant des propriétés communes biochimiques et morphologiques. Parmi lesquelles on trouve : *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* et *Shigella* (**William et al, 1980**). Avec les travaux d'Edwards et Ewing en 1972 rapportaient 11 genres et 26 espèces dans la famille des Enterobacteriaceae. En 1973, 31 genres et 139 espèces étaient caractérisés. En 1985, Farmer et Coll décrivaient 22 genres comprenant 69 espèces et 29 groupes entériques (**Habibou, 2019**) et ces découvertes ont continué à se développer jusqu'à aujourd'hui.

1.2. Définition et caractères généraux

Les bactéries appartiennent à un vaste ensemble des micro-organismes invisibles à l'œil nu, constituées d'une seule cellule sans véritable noyau. Elles contiennent un seul chromosome qui se présente sous la forme d'un long filament d'ADN pelotonné sur lui-même et dans leur cytoplasme de petits fragments d'ADN circulaires et les plasmides (**Bourama, 2021**). Malgré cette simplicité structurelle, il existe une grande diversité bactérienne et on peut distinguer deux grandes classes des bactéries qui sont les Gram positive (peptidoglycane est épais et riche) et les Gram négative (peptidoglycane est fin et composé en majorité de Lipide) (**Bianchi et al, 2019**).

Les entérobactéries sont une grande famille de bacilles Gram-négatifs, non sporulées, aérobies ou anaérobies facultatives, mobiles par ciliature péritriche ou immobiles (*Shigella*) (**Adeolu et al, 2016**). La présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez *Klebsiella*. Les entérobactéries non exigeantes se développent aisément sur milieu ordinaire, fermentent le glucose avec ou sans production de gaz, réduisent les nitrates en nitrites (quelques exceptions parmi *Erwinia*), oxydase négative et catalase positive (**Barthelemy, 2016**).

Les membres de ce groupe colonisent un certain nombre de niches écologiques différentes et ont été trouvés dans le sol, l'eau et en association avec des organismes vivants, notamment des plantes, des insectes, des animaux et des humains (**Brenner et Farmer, 2005**). De nombreux membres de cette famille ont été considérés comme agents pathogènes chez l'homme et l'animal, comme l'espèce *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* et *Yersinia*

pestis, et aussi économiquement phytopathogènes dévastateurs, tels que les espèces des genres *Dickeya*, *Pectobacterium*, *Brenneria*, *Erwinia* et *Pantoea* (Figure 1) (Annexe1) (Adeolu et al. 2016).

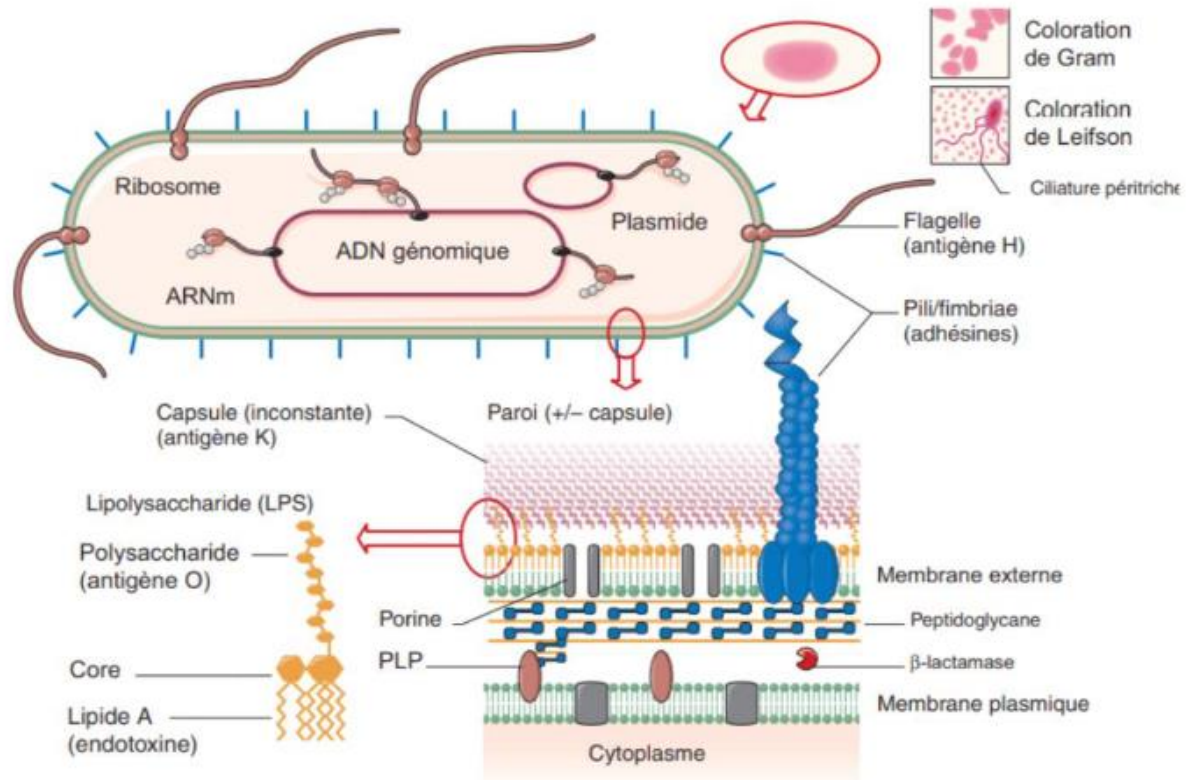


Figure 1. Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae (Denis et al. 2007).

1.2.1. Caractères antigéniques

Les entérobactéries possèdent différents types d'antigènes qui les caractérisent et permettent aussi de faire le sérodiagnostic des infections à entérobactéries :

- **Antigène O**, antigène de paroi (somatique) présent chez toutes les entérobactéries, constitué de lipopolysaccharides (LPS) thermostables, Le LPS possède une fraction protéinique qui contribue à l'antigénicité, une fraction polysaccharidique responsable de la spécificité de l'antigène et une autre fraction lipidique responsable de la toxicité (endotoxine) capable de provoquer de la fièvre, leucopénie, bradycardie, hypotension, coagulation intravasculaire disséminée et la mort (Meziani, 2012).

- **Antigène H**, antigène flagellaire non toxique, présent chez les entérobactéries mobiles, de nature protéique, constitué de flagelline thermolabile. Il peut être mis en évidence par agglutination avec des sérums spécifiques (**Fatnassi, 2020**).
- **Antigène K ou antigène Vi**, antigène de capsule ou d'enveloppe, de nature polysaccharidique, il peut masquer l'antigène O (**Avril et al. 2000**).
- **Antigène de Kunin (ECA)** ou de l'anglais (Enterobacteriaceae common antigen), il est constitué d'un glycophospholipide spécifique des entérobactéries (**Douhan, 2021**).
- **Antigène d'adhésines** (*fimbriae ou pili*) sont des hétéropolymères d'environ 1µm de longueur et de 5 à 10 nm de diamètre (**Kaper et al. 2004**).

1.2.2. Mise en culture et caractères physiologiques des entérobactéries

Les entérobactéries poussent facilement sur milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobie et en anaérobie (**Niandou, 2005**). Les besoins nutritionnels de cette famille sont généralement réduits, la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme les milieux à base de glucose (**Hayette et al, 2010**). Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5,5 - 8) et ils sont assez tolérants aux variations de la pression osmotique. Ainsi, on distingue **5 types** de colonies : **Colonies S** (smooth), arrondies, lisses, humides, blanches ou translucides, de 2 à 4 mm de diamètre. **Colonies R** (rugueuses), sèches à contours irréguliers et mates (bactéries vieilles ou anormales), **colonies M** (muqueuses), grosses colonies plus ou moins confluentes (*Klebsiella* spp.) (**Victonie, 2016**). Et des **colonies envahissantes ou nappantes**, formation d'un tapis uniforme (*Proteus*), **colonies naines**, elles s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques (**Fatnassi, 2020**).

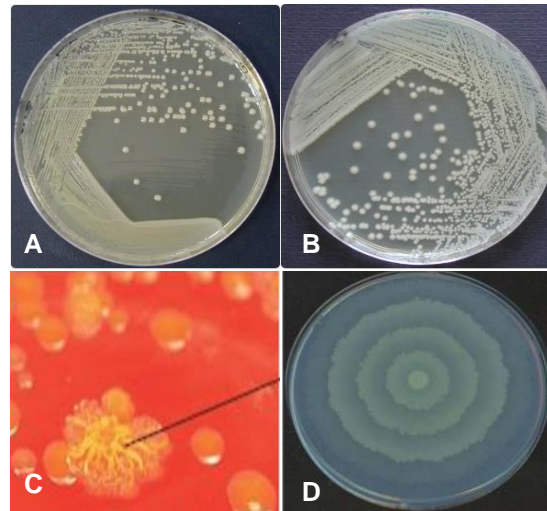


Figure 2 : Aspect macroscopique de quelques colonies des entérobactéries. **A :** Colonie S (*Serratia marcescens*) **B :** colonie M (*Klebsiella pneumoniae*) (microbiologiemedicale.fr, 2022) **C :** colonie R (*Salmonella pneumoniae*) ([Alnaji, 2018](#)), **D :** colonie envahissantes (*Proteus mirabilis*) ([Schaffer et al. 2017](#)).

1.3. Identification des entérobactéries

1.3.1. Identification biochimique

Avant le début du 20^e siècle, des efforts ont été faits pour trouver des substrats biochimiques qui permettraient de différencier les genres de groupe des gram-négatifs ([O'hara, 2005](#)). L'identification du genre et d'espèce bactérienne repose d'abord sur l'étude des caractères biochimiques, qui sont le test de l'utilisation du citrate de Simmons (CS) comme seule source de carbone, la production d'uréase, la possibilité et la capacité de fermenter le glucose, la capacité à réduire les nitrates en nitrite, la fermentation du lactose, la production d'indole, la production d'acétoïne, la désamination du tryptophane (TDA) ([Avril et al. 2000](#)).

A) Recherche de l'acétoïne ou Réaction de Voges-Proskauer (VP)

La formation de l'acétylméthyl carbinol (AMC) ou acétoïne se fait soit à partir de deux molécules d'acide pyruvique, soit à partir du glucose. En présence d'une base forte, l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné ([Avril et al. 2000](#)). Les entérobactéries des genres *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia* produisent de l'acétoïne, test VP + ([Lanotte et al. 2011](#)).

B) Fermentation des sucres, production du sulfure d'hydrogène et de gaz

Le milieu de culture Kligler-Hajna permettant la recherche de l'activité fermentaire du glucose et du lactose ; la production du sulfure d'hydrogène (H₂S), aussi la production de gaz chez les entérobactéries (Avril et al. 2000). Le milieu est ensemencé avec la souche à étudier en effectuant des stries à la surface de la pente de la gélose, puis le culot est ensemencé par piqûre centrale. Les bactéries acidifient le glucose en anaérobiose relative (culot) (le culot vire vers le jaune chez les entérobactéries). Si le germe n'utilise pas le lactose, la pente devient rouge par réalcalinisation du milieu due à la formation de produits alcalins provenant de la dégradation des acides aminés (*Proteus*). Si les bactéries utilisent le lactose en aérobie relative (pente), il y a virage de la pente vers le jaune (*Escherichia coli*) (Figure 2) (Annexe 02). Par ailleurs, la production de sulfure d'hydrogène est mise en évidence par une coloration noire dans le culot avec la présence de bulles d'air ou le décollement du culot indique la production de gaz. *Salmonella Typhimurium*, par exemple, est H₂S positif, Alors qu'*E. coli* est H₂S négatif (Lanotte et al. 2011).

C) Recherche de mobilité

Le mannitol a été utilisé pour identifier la mobilité, elle est définie lorsque le milieu ensemencé par piqûre centrale et l'indicateur coloré passe du rouge au jaune (acidification du milieu), ainsi lorsqu'un trouble envahissent toute la largeur de la gélose de part et d'autre de la piqûre centrale, alors qu'une bactérie immobile ne se développe que le long de la piqûre (Lanotte et al. 2011).

D) ONPG

Il s'agit de la recherche d'une β -galactosidase qui dégrade le lactose en galactose et glucose. Il peut être réalisé en mettant en contact une suspension bactérienne épaisse en eau physiologique avec un disque d'ONPG, Après une mise à l'étuve à 37°C pendant 18 heures, il y'a une apparition d'une coloration jaune (Lanotte et al. 2011). Les entérobactéries ONPG négatives sont *Salmonella*, *Shigella* (certaines espèces) et *Proteus*. *Enterobacter* et *Escherichia coli* possèdent une β -galactosidase (Boadi et al. 2010)

E) Recherche de la production d'indole

La production d'indole par hydrolyse du tryptophane peut être effectuée à partir d'une culture de 24 heures de la souche à étudier en milieu de Ferguson ou en eau peptonée dépourvue d'indole (**Lanotte et al. 2011**). L'indole produit donne une coloration rouge en présence du réactif de Kovacs (para-diméthylaminobenzaldéhyde + alcool isoamylique), c'est le cas avec *E. coli*.

F) Recherche d'une Uréase

La recherche d'une uréase s'effectue en milieu urée tryptophane (improprement appelé milieu urée-indole). Ce milieu contient du tryptophane, de l'urée et du rouge de phénol comme indicateur de pH. Les bactéries possèdent une enzyme active appelée l'uréase, cette enzyme scinde l'urée en dioxyde de carbone (CO_2) et en ammoniac (NH_3) et la combinaison de ces deux substances donne du carbonate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$). Le carbonate d'ammonium change le pH du milieu et devient alcalin, ce qui se traduit par le virage de l'indicateur coloré de l'orange vers le rose (**Avril et al. 2000**).

G) Recherche de tryptophane désaminase

À partir du milieu de Ferguson contenant du tryptophane, du rouge de phénol et de l'urée, il est possible de mettre en évidence une activité tryptophane désaminase (TDA). Une suspension bactérienne dense dans un milieu de Ferguson permet, après incubation à 37 °C pendant 18 heures et ajout d'une goutte de Perchlorure de fer à 30 %, de mettre en évidence une coloration brune si la bactérie testée est dite TDA (+) exemple de *Proteus*, *Providencia* et *Morganella* (**Lanotte et al. 2011**).

H) Utilisation du citrate comme unique source de carbone

L'utilisation du CS (Citrates de Simmons) comme seule source de carbone par les bactéries se traduit par un changement du potentiel d'hydrogène (pH) vers une alcalinisation du milieu qui correspond au virage de l'indicateur coloré du vert au bleu (**Avril et al, 2000**). À titre d'exemple, l'espèce *Klebsiella pneumoniae* entraîne une croissance et une coloration bleue du milieu.

J) Tests antigéniques

Pour l'identification antigénique, plusieurs techniques qui ont débouché sur des applications de routine, voire sur la commercialisation de réactifs tout prêts, utilisent l'immunofluorescence, l'immunocapture, la contre-immunoelectrophorèse, l'agglutination par exemple, le sérodiagnostic de Widal-Felix pour le diagnostic des fièvres typhoïdes et les techniques immuno-enzymatiques (ELISA) (Denis et Ploy, 2011).

Tableau 1. Caractères biochimiques de quelques entérobactéries (Habibou, 2019).

	<i>Mobilité</i>	<i>Glu</i>	<i>Lac</i>	<i>ONPG</i>	<i>VP</i>	<i>Indole</i>	<i>Citrate</i>	<i>Uréase</i>	<i>H₂S</i>
<i>Escherichia</i>	+	+	+/-	+	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+/-
<i>Enterobacter</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>Klebsiella</i>	-	+	+	+	+/-	- (+)	+/-	+/-	-
<i>Serratia</i>	+	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>Salmonella</i>	+	+	-	+	-	-	+/-	-	+/-
<i>Shigella</i>	-	+	-	+/-	-	+/-	-	-	-
<i>Proteus</i>	+	+	-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
<i>Yersinia</i>	+	-	-	+	-	+/-	-	-(+)	-
<i>Morganella</i>	+	+	-	-	-	+	-	+	-
<i>Providencia</i>	+	+	-	-	-	+/-	+	+/-	-

ONPG = Ortho NitroPhenyl Galactoside ; VP = Voges Proskauer ; TDA = Tryptophane desaminase ; H₂S = Hydrogène sulfureux ; Glu =Glucose ; Lac = Lactose ; (+) = positif ; (+/-) = variable ; (-) = négatif ; -(+) = en général négatif – exceptionnellement positif tard.

1.3.1.2. Microgaleries et automates d'identification biochimique.

Actuellement on utilise des systèmes de micro-tests prêts à l'emploi permettant la réalisation des tests biochimiques d'identification facile de l'espèce , et aussi l'utilisation ou non des différents substrats par la bactérie sera détectée par différentes mesures toutes automatisables (les plaques du MicroScan®, les cartes du Vitek® 2 ou les galeries du Phoenix®, API®) (Riege et al. 2016). Par exemples, la galerie d'identification API20E, est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif. Le système API® est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries (Biomérieux, 2010). La

galerie API20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés, Ces microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les tests et les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du *Tableau de Lecture*, et l'identification est obtenue à l'aide du *Catalogue Analytique* ou d'un logiciel d'identification (**Aniambossou, 2016**) (**Figure 3**) (**Annexe03**).

1.3.2. Identification moléculaire

L'identification des bactéries par biologie moléculaire débute dans les années 1980 et a pris une importance considérable dans le diagnostic bactériologique (**Roux et Rolain, 2020**). Ces techniques réalisées pour identifier des bactéries soit à partir d'un isolat bactérien par la spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Désorption Ionisation-Time-of-Flight) est apparue comme une nouvelle technique pour l'identification des espèces bactérienne par comparaison des profils de pics protéiques obtenus avec ceux inclus dans une banque de profils. Cette méthode a été utilisée pour faciliter la détection et l'identification des espèces de *Salmonella* et du complexe *Enterobacter cloacae* (**Douhan, 2021**). Soit directement à partir d'un prélèvement biologique en ciblant des gènes spécifiques d'une espèce donnée par polymérase Chain réaction (PCR) en temps réel (**Costa et al. 2014**). Ou par le séquençage des gènes codant 16S ARNr qui sont un fragment génétique idéal à utiliser dans l'identification, la comparaison et la classification phylogénétique des bactéries (**Woese, 1987**). En outre, l'identification et le séquençage des gènes de ménage pour un groupe de bactéries peut être basée sur la comparaison des séquences d'un seul gène comme par exemple *rpoB*, *gyrB* (codant la sous-unité B de l'ADN gyrase) , mais de plus en plus souvent, la combinaison des informations apportées par un séquençage de plusieurs fragments de gènes (Multilocus Sequence Analysis [MLSA]) (**Roux et Rolain, 2020**)

Ils existent quelques limites à l'identification bactérienne, en particulier pour les entérobactéries, ceci nous a amené à développer le gène *rpoB* qui est un outil plus performant que l'outil 16S rARN pour l'identification des entérobactéries (**Drancouri, 1998**). De plus, MLVA (Multiple Locus Variable Number Tandem Repeats Analysis) est basée sur des éléments d'ADN répétitifs organisés en tandem. Les erreurs de répllication de l'ADN, telles que les mésappariements de brins glissés, génèrent une diversité dans le nombre de répétitions en tandem observées parmi les souches de la même espèce. MLVA détermine le nombre de répétitions en tandem, ou d'unités de copie, à plusieurs locus de répétition en tandem à

nombre variable (VNTR) dans le génome (**Nadon et al. 2013**). La comparaison de la taille des fragments amplifiés par PCR peut être effectuée après migration sur gel d'agarose ou après séquençage, cette approche a également été utilisée récemment pour le typage d'isolats de *Yersinia pestis* (**Roux et Rolain, 2020**).

Ces méthodes sont non seulement plus rapides et plus précises que les méthodes conventionnelles, mais permet également d'identifier les souches qui sont difficiles à cultiver en laboratoire.

1.4. Taxonomie

Les techniques de taxonomie bactérienne ont évolué en fonction du développement des méthodes biochimiques et moléculaires ainsi que l'invention de l'outil informatique. On distingue différentes périodes au cours desquelles a été utilisée une taxonomie phénotypique, une taxonomie numérique, une taxonomie phylogénétique et une taxonomie mixte et consensuelle, tous ces multiplication pour donner à la fin une classification parfaite (**Stackebrandt, 2003**).

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. Depuis l'enfance de cette famille à la fin des années 1930 jusqu'à la fin des années 1980, le principal moyen d'identifier initialement les taxons potentiels (genres, espèces) résidant dans les entérobactéries était une série de propriétés collectives presque exclusivement associées à cette famille. Ces marqueurs taxonomiques étaient des éléments clés dans la reconnaissance de souches inhabituelles, de nouveaux biotypes ou d'espèces génomiques potentiellement sans nom avant de déterminer la parenté génétique. Les traits utilisés à cette fin ont été progressivement élargis et affinés au fil du temps et ont contribué à définir la famille d'un point de vue taxonomique. (**Janda, Abbottb.2021**)

Historiquement, la différenciation des membres de cette famille a été basée sur des caractéristiques biochimiques ; avec l'utilisation de tests miniaturisés qui contiennent diverses sources de carbone et d'azote .Plus récemment, l'identification des entérobactéries est basée sur des marqueurs génétiques tels que MLSA et l'analyse de la séquence du gène *ARNr 16S*. Cependant, dans certains cas, le faible pouvoir discriminant de l'analyse de cette séquence rend nécessaire l'utilisation de techniques d'identification supplémentaires de sorte que la taxonomie des entérobactéries a subi des changements répétés (**Morales-López et al. 2019**).

Mais le principal changement dans sa classification taxonomique est intervenu en 2016, lorsque Adeolu et al ont réalisé des analyses génomiques comparatives complètes des

membres de l'ordre des entérobactérales, qui comprennent des reconstructions phylogénétiques basées sur 1548 protéines de base, 53 protéines ribosomiques et quatre protéines d'analyse de séquences multilocus, ainsi que l'examen de la similarité globale du génome parmi les membres de cet ordre. Les résultats de ces analyses soutiennent tous l'existence de sept groupes de genres monophylétiques distincts au sein de l'ordre des «Enterobacterales » (**Janda et Abbottb, 2021**). En parallèle, les analyses des séquences protéiques des génomes des « Enterobacterales » ont identifié de nombreuses caractéristiques moléculaires sous forme d'insertions/délétions de signature conservées, qui sont spécifiquement partagées par les membres des clades identifiés et soutiennent indépendamment leur monophylie et leur distinction (**Gupta, 2014 ; Gupta, 2016 ; Naushad et al. 2014**). Beaucoup de ces groupements, en partie ou en totalité, ont été reconnus dans des études évolutives antérieures, mais n'ont pas été systématiquement résolus en tant qu'entités monophylétiques dans les arbres génétiques de l'ARNr 16S (**Adeolu et al.2016**). De ce fait, ils ont proposé que l'ordre des Enterobacterales, qui jusque-là, ne possédait qu'une seule famille d'*Enterobacteriaceae* a changé son nom pour ordonner les Enterobacterales, et il serait divisé en sept familles : les *Enterobacteriaceae* (**Morales-López et al. 2019**), *Erwiniaceae* Fam nov., *Pectobacteriaceae* Fam. nov., *Yersiniaceae* Fam. nov., *Hafniaceae* Fam. nov., Famille des *Morganellaceae*. Nov. et *Budviciaceae* Fam. nov. La plupart des genres de l'ordre des Enterobacterales, qui englobent plus de 250 espèces, sont placés dans la seule famille dont le nom a été valablement publié au sein de l'ordre, les Enterobacteriaceae , Cette famille contient 60 genres y compris le genre *Chania* récemment décrit (**Ee et al., 2016**) et un genre supplémentaire dont le nom n'est pas encore valablement publié '*Atlantibacter*' (**Hata et al., 2016**) (**Figure 4**)(**Annexe 4**).

Dans le cas des entérobactéries, la DDH (Hybridation ADN-ADN) a montré que la teneur en G+C a une large gamme (38 à 60 % molaire), ce qui n'est pas typiquement trouvé pour les familles phylogénétiquement "serrées". La famille des *Moraxellaceae*, par exemple, présente une teneur en G+C beaucoup plus étroite, de 38 à 50 % en moles. Cependant, la plupart des genres de la famille des *Enterobacteriaceae* ont une teneur en G+C de 49 à 59 % molaires, ce qui correspond davantage à d'autres familles contenant des genres phylogénétiquement apparentés (**Janda, Abbottb, 2021**).

Tableau 2. Classification de la famille Enterobacteriaceae et ses différents genres (LPSN, 2022).

Règne	<i>Procaryote</i>
Domaine	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gamma-proteobacteria
Ordre	Enterobacterale
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genres	<i>Buttiauxella, Cedecea, cronobacter, Cronobacter, Enterobacillus, Enterobacter, Escherichia, Fraconibacter, Gibbsiella, Intestinirhabdus, Izhakiella, Klebsiella, Kluyvera, kosakonia, Leclercia, Lelliottia, Limnobaculum, Mangrovibacter, Phytobater, Plesiomonas carrig, Pluralibacter, Pseudeschierichia, Pseudocitrobacter, Raoultella, Rosenbergiella, Saccharobcter, Salmonella, Scandinavium, Shigella, Schimwellia, Siccibacter, Trabulsiella, Yokenella.</i>

Chapitre 2

‘Antibiotiques & Antibio-resistance’

"Il n'y a probablement aucun médicament chimiothérapeutique auquel, dans des circonstances appropriées, la bactérie ne puisse réagir en acquérant d'une manière ou d'une autre une "solidité" [résistance]." - Alexander Fleming, 1946

1. Historique

Les antibiotiques existent depuis qu'un célèbre scientifique, Alexander Fleming à découvert l'origine d'un antibiotique très courant appelé pénicilline en 1928. Fleming travaillait sur des bactéries staphylococciques et a découvert qu'une de ses boîtes de Pétri était contaminée par des moisissures (**Tan et Tatsumara, 2015**), *penicillium notatum*. La contamination d'un plat de pétri, fait banal dans la vie d'un microbiologiste, permit à Fleming d'observer que la bactérie ne poussait plus dans la zone où se développait la moisissure. Fleming soupçonna fort justement que celle-ci sécrétait une substance inhibitrice qu'il nomma pénicilline. Cela a conduit à la découverte de la pénicilline et de nombreux autres antibiotiques utilisés dans les thérapies cliniques (**Nounsi, 2019**).

Pendant l'âge d'or entre les années 1940 et 1970, vingt nouvelles classes d'antibiotiques avec divers mécanisme d'action ont été découvertes (**Durand et al. 2019**). La majorité ont été isolés à partir de sources naturelles. Les principales sources étaient des actinomycètes, des champignons et d'autres bactéries. (**Perry, 2021**). Quelques années après le premier essai clinique de la pénicilline sur l'homme, la streptomycine a été découverte (**Etebu et Ukpog, 2016**). Depuis lors, la microbiologie, la médecine et la chimie font d'immenses progrès, ce qui permet d'enchaîner les découvertes scientifiques et on découvre de nouvelles thérapies (**Fosseprez, 2013**).

2. Définition

Le mot antibiotique vient du grec "anti" qui signifie contre et "bios" qui signifie la vie. On peut ainsi traduire celui-ci comme contre la vie. (**Konaté, 2021**). Un antibiotique se définit comme étant : substance chimiquement hétérogène produite par un micro-organisme tels que des bactéries ou des champignons, ou une substance similaire (produite totalement ou partiellement par synthèse chimique), capables, à faible concentration, d'inhiber la croissance d'un autre organisme (effet bacteriostatique) ou de le détruire (effet bactéricide). Pour exercer leur action, ils doivent se lier à des cibles moléculaires spécifiques le plus souvent intracellulaires (**Leclercq et al. 2006**).

Les antibiotiques les plus utilisés pour lutter contre les infections humaines interfèrent avec les réactions structurales ou physiologiques qui sont particulières aux pathogènes infectieux. Ceci est possible car les bactéries sont physiologiquement très différentes des

eucaryotes. Par conséquent, les antibiotiques peuvent exploiter ces différences et détruire les « envahisseurs » sans dommages significatifs à l'hôte humain (Goro, 2021).

3. Classification des antibiotiques

La diversité et la complexité des antibiotiques imposent la nécessité de les classer selon plusieurs critères.

3.1. Mécanisme d'action

Les agents antimicrobiens ont été classés en fonction de leur mécanisme d'action, de leur structure chimique ou de leur spectre d'activité. Le mode d'action principal est l'inhibition d'étapes vitales dans la croissance ou la fonction du micro-organisme. Ces étapes comprennent l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, l'inhibition de la synthèse des protéines, l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques ou la perturbation de la fonction de la membrane cellulaire (Sabundayo et Calderón, 2007).

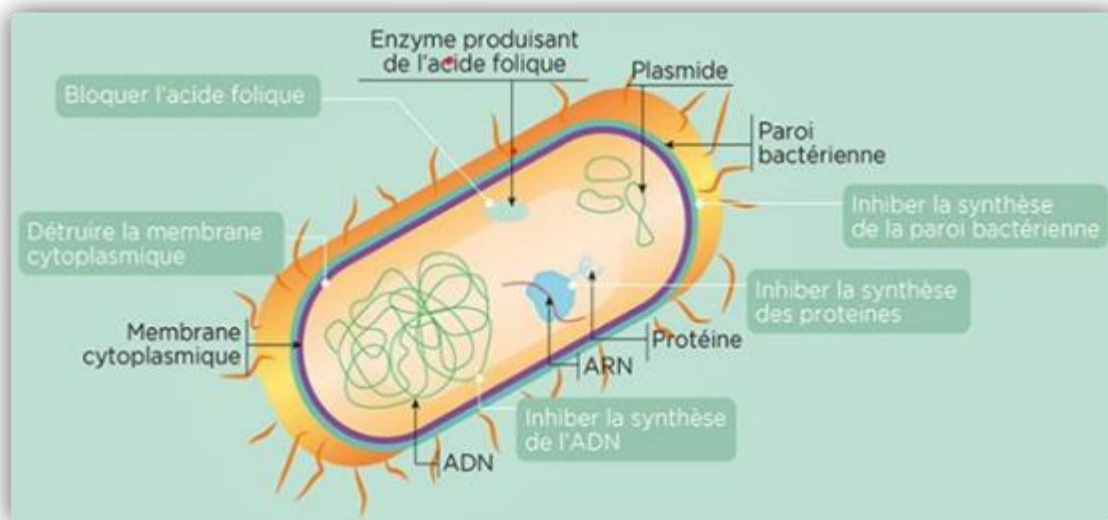


Figure 3. Différents modes d'action des antibiotiques (Koulikoff, 2017).

3.1.1. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de peptidoglycane

A l'inverse des cellules eucaryotes animales, les bactéries sont entourées d'une paroi composée principalement de peptidoglycane ; un polymère de sucres réticulé par des ponts de nature peptidique. Plusieurs classes d'antibiotiques prennent pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi (Van Bambeke et Pharm, 2007).

A. Les bêta-lactamines

Elles se caractérisent par un élément structural commun : noyau bêta-lactame. Cet hétérocycle tétragonal est essentiel pour l'activité biologique et gouverne toute la chimie des antibiotiques de cette famille. (Konaté ,2021). Les bêta-lactamines inhibent les transpeptidases et les carboxypeptidases parce qu'elles possèdent une analogie structurale avec le substrat naturel de ces enzymes et se fixent par une liaison covalente sur des cibles spécifiques, les PLP (protéine de liaison à la pénicilline) ce qui inhibe la transpeptidation et la synthèse du peptidoglycane. Une fois fixé sur les PLP, les bêta-lactamines provoquent une déstructuration du peptidoglycane et la libération de l'acide lipoteichoïque (Goro, 2021), ce sont donc des antibiotiques bactéricides. Cette bactéricidie résulte d'une lyse bactérienne conséquence de l'activation des enzymes auto-lytiques de la bactérie qui s'ajoute à l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane (Konaté, 2021)

B. Les polypeptides

Les polypeptides semblent être bactéricides au lieu de bactériostatiques à large spectre, (Bensghir et Kdya ,2020). Ce sont des heptapeptides dont la structure de base est très voisine. Leur spectre est étroit et limité aux bactéries à gram positif en particulier les staphylocoques des infections graves (Konaté, 2021)

3.1.2. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines

Le ribosome bactérien est la cible, les antibiotiques de cette classe provoquent l'arrêt plus ou moins efficace brutale de la synthèse protéique. On citera l'inhibition des liaisons peptidiques, l'inhibition de l'élongation protéique, l'inhibition de la translocation ou ; l'inhibition des étapes post-translocation (Kadidia, 2020). Ce sont les plus nombreux, comprenant les aminosides, les macrolides, les cyclines, et l'acide fusidique (Adebo, 2019).

A. Aminosides

Ce sont des antibiotiques rapidement bactéricides. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et hémi-synthétiques. Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol (Yala et al. 2001). Les aminosides agissent en se liant principalement à l'ARN ribosomal 16S de la sous-unité 30S et/ou 50S du ribosome bactérien, altérant ainsi la synthèse protéique de la paroi bactérienne (Bourdon, 2011).

B. Macrolides

Les macrolides sont des antibiotiques des bactériostatiques qui inhibent la synthèse protéique bactérienne en se fixant sur l'unité 50S du ribosome. (Ziadi, 2011). Ils sont caractérisés par un anneau macrocyclique lactonique oxygéné auquel sont liés deux sucres par des liaisons glycosidiques (Konaté, 2021). Ils possèdent un noyau lactone central qui est à la base de leur classification, selon le nombre d'atomes de carbone. Ce sont des molécules lipophiles (Yala et al. 2001).

C. Phénicoles

Leur structure est phénylpropanique dont la chaîne hydroxylée comporte une fonction acétamide (Konaté, 2021). Ce sont des bactériostatiques à large spectre, ils agissent au niveau de la sous unité 50S du ribosome, ceci a pour conséquence une inhibition de la synthèse des protéines (Ziadi, 2011).

D. Cyclines

Ils possèdent tous un noyau à quatre cycles de type « naphtacène carboxamide » sur lequel divers radicaux viennent se substituer sur les carbones du système cyclique (Konaté, 2021). Les tétracyclines sont des molécules bactériostatiques à très large spectre qui inhibent la traduction en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome et bloque ainsi la croissance bactérienne (Oberlé, 2012 ; Lavigne, 2007).

E. Streptogramines ou Synergistines

Les Synergistines agissent au niveau du ribosome bactérien en induisant une inhibition de la synthèse protéique bactérienne (Buxeraud et Faure, 2016). Deux streptogramines sont utilisés : la pristinamycine et la quinupristine-dalfopristine (Leclercq, 2002). La structure des synergistines est complexe, elle comprend les streptogrammes du groupe A composés de peptolides macrocycliques insaturés subdivisés en fraction II a et II b ou M1 et M2, les streptogramines du groupe B composés de polypeptides subdivisés en plusieurs facteurs (Yala et al. 2001).

3.1.3. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la membrane

Les polymyxines sont des antibiotiques produits naturellement par *Paenibacillus polymyxa*. Deux classe uniquement sont utilisées en clinique, ce sont la polymyxine B et de la polymyxine E aussi appelée colistine. Ces molécules, ayant des propriétés hydrophiles et

lipophiles, déstabilisent les membranes bactériennes en se fixant au lipide A (constituant du lipopolysaccharide) ce qui aboutit à la perméabilisation de la membrane externe. Les polymyxines ayant atteint l'espace périplasmique vont lyser également la membrane interne. L'efficacité des polymyxines n'est déterminée que sur les bactéries à Gram négatif (**Boutal, 2017**).

3.1.4. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques et de leurs précurseurs

Les antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques peuvent agir à différents niveaux (**Mazri, 2015**) :

- Les sulfamides et triméthoprimes inhibent la biosynthèse de l'acide tétra - hydrofolique, précurseur des bases puriques et pyrimidiques.
- Les quinolones inhibent la réplication de l'ADN, en agissant sur l'ADNgyrase ainsi que les topoisomérases.
- Les rifamycines agissent sur l'ARN polymérase et empêchent la transcription de l'ADN.

3.1.5. Antibiotiques inhibiteurs de voies métaboliques :

Ils agissent en tant qu'antimétabolites bactériens (c'est-à-dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries), par exemple ; agissent sur le métabolisme de l'acide folique (**Bergogne-Bérézin, 2006**). La capacité des bactéries à s'adapter aux différentes conditions des milieux nutritifs est le résultat d'un ensemble de voies métaboliques très variées. Malgré ce fait, le nombre de molécules d'antibiotiques agissant à ce niveau et utilisables en clinique est très réduit (**Van Bambeke et Pharm, 2007**).

- **Sulfamides**

En raison de la similitude de leur structure avec celle de l'acide para-amino-benzoïque, les sulfamides se comportent comme inhibiteurs compétitifs de ce dernier dans la synthèse des folates. Ils bloquent la dihydroptéroate synthétase (DHPS). Rappelons que le rôle des folates est fondamental dans les réactions de transfert des radicaux monocarbonés (formyl, formaldéhyde, hydroxy méthyl), réactions en pratique essentielles pour la synthèse des bases puriques et de la thymidine, donc des acides nucléiques, de la méthionine, de l'acide

glutamique. Le spectre d'activité est théoriquement large pour la majorité des bactéries à Gram positif et négatif (Goro, 2021).

Tableau 3. Antibiotiques et mécanismes de résistance (Domínguez et al. 2019)

Classe d'antibiotique	Antibiotiques	Mode d'action	Mécanisme de résistance
Aminoglycosides	Amikacine Gentamicine Kanamycine Streptomycine Tobramycine	Inhibition de synthèse protéique (traduction)	Enzymes modificatrices (phosphorylation, acétylation, nucléotidylation) Cible ribosomique altérée. Absorption réduite (efflux)
bêta-lactamines	Penicilline Cephalosporines Carbapénemes Monobactames	Inhibition de synthèse de peptidoglycane	Cible altérée (PBP2a) Hydrolyse (beta- lactamase) Perméabilité réduite (efflux)
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine Ofloxacine Levofloxacine Sparfloxacine	Inhibition de réplication d'ADN	Acétylation Efflux ADN gyrase altérée
Inhibiteurs de Folate	Trimethoprime Sulfamides	Inhibition de synthèse d'acide folique	Efflux Nouvelles enzymes cibles

Glycopeptides	Vancomycine Teicoplanine	Inhibition de synthèse de peptidoglycane	Modification de la cible (reprogrammer la biosynthèse de peptidoglycane)
Macrolides	Erythromycine Clarithromycine Azithromycine	Inhibition de synthèse protéique (traduction)	Enzymes modificatrices (glycosylation, phosphorylation) Efflux Cible ribosomale altérée Hydrolyse
Rifamycines	Rifampicine	Inhibition de synthèse d'ARN (transcription)	ARN polymérase altérée ADP-ribosylation Efflux
Tétracyclines	Tétracycline Doxycycline Minocycline Tigecycline	Inhibition de synthèse protéique (traduction)	Cible ribosomale altérée Efflux Monooxygénation

4. Résistance bactérienne aux antibiotiques

L'introduction de chaque nouvelle classe d'antibiotique a été suivie de l'émergence de nouvelles souches de bactéries résistantes à cette classe.

4.1.Origine de la résistance

Les antibiotiques sont définis comme des composés capables d'inhiber efficacement la croissance des micro-organismes. Cependant, l'utilisation accrue des antibiotiques dans la pratique clinique a rapidement été suivie par l'émergence d'une résistance aux antibiotiques. En effet, une résistance a commencé à apparaître dans les organismes cibles quelques années après leur introduction dans la pratique médicale (Scheffler et al. 2013). Des souches résistantes sont apparues très rapidement pour chaque nouvel antibiotique, et ce, quel que soit le mécanisme développé (Lai, 2013). Les souches résistantes aux médicaments sont d'abord apparues dans les hôpitaux, où la plupart des antibiotiques étaient utilisés (Levy, 1998). La première population résistante a été celle du *Staphylococcus aureus* à la pénicilline G passant de 8% en 1945 à 60% en 1949 (Bush, 2004).

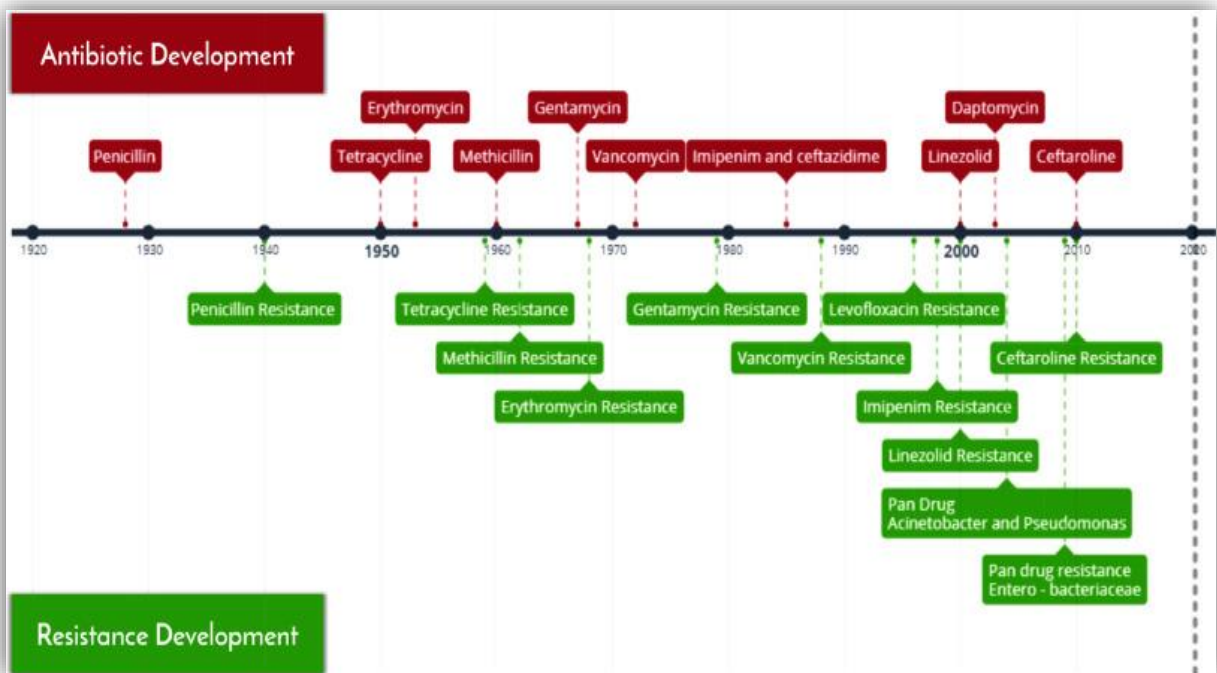


Figure 4. chronologie des résistances. (Zainab et al ,2020)

Il a été signalé par Zaman et al. 2017 que la résistance aux antibiotiques se produit lorsqu'un médicament perd sa capacité à inhiber efficacement la croissance bactérienne. Les bactéries deviennent « résistantes » et continuent à se multiplier en présence de celui-ci. Selon l'OMS, la résistance aux antibiotiques est l'une des plus grandes menaces pour la santé publique dans le monde. Les infections comme la pneumonie, la gonorrhée, la tuberculose et la salmonellose sont de plus en plus difficiles à traiter en raison de ce problème (OMS, 2017). L'évolution d'espèces bactériennes résistantes découle d'une multitude de facteurs qui incluent

l'utilisation répandue et parfois inappropriée et la prescription excessive d'antibiotiques, l'utilisation de doses insuffisantes, les attitudes irrationnelles des prescripteurs, les demandes des patients. Ainsi, l'utilisation extensive de ces agents comme activateurs de croissance dans l'alimentation animale et l'augmentation des voyages régionaux et internationaux, Tous ces facteurs ont conduit au développement des bactéries pathogènes résistantes aux agents antimicrobiens et à la persistance de cette résistance. En raison de cette situation grave et menaçante, l'OMS a récemment publié une liste des dix principales bactéries multirésistantes pour lesquelles de nouveaux types d'antibiotiques devraient être développés en priorité (Egli et al .2018).

Tableau 4. Liste prioritaire de l'OMS pour les bactéries multi-résistantes (OMS, 2017)

Statut de priorité	Pathogène
Priorité 1 : critique	<i>Acinetobacter baumannii</i> , résistants aux carbapénèmes
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , résistants aux carbapénèmes
	<i>Enterobacteriaceae</i> , résistants aux carbapénèmes ou producteurs de BLSE
Priorité 2 : élevée	<i>Enterococcus faecium</i> , résistants à la vancomycine
	<i>Staphylococcus aureus</i> , résistants à la méticilline, résistance intermédiaire ou complète à la vancomycine
	<i>Helicobacter pylori</i> , résistants à la clarithromycine
	<i>Campylobacter</i> spp., résistants aux fluoroquinolones
	<i>Salmonella</i> spp., résistants aux fluoroquinolones
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , résistants aux céphalosporines
Priorité 3 : intermédiaire	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , insensibles à la pénicilline

Haemophilus influenzae,
résistants à l'ampicilline

Shigella spp.,
résistants aux fluoroquinolones

L'origine de la montée des résistances est probablement multifactorielle. En premier lieu, il faut rappeler que les espèces vivantes sont caractérisées par une grande capacité d'adaptation aux changements d'environnement grâce aux processus de mutation et/ou d'acquisition de gènes exogènes suivis d'un processus de sélection. En tant que population, elles ont un potentiel élevé de résistance vis-à-vis de tout produit destiné à les détruire (Mesaros et al.2005). Il existe deux types de résistances des bactéries aux antibiotiques : la résistance naturelle (innée) ou acquise.

4.1. La résistance naturelle ou insensibilité

C'est un caractère qui fait partie du patrimoine génétique de l'espèce et est donc présente chez toutes les souches d'une même espèce. Elle constitue un caractère d'identification des bactéries et détermine le phénotype « sauvage » des bactéries (Saadoun, 2020). La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique, héréditaire, elle est transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (Bensghir et Kdya, 2020). Elle est censée préexister à l'usage des antibiotiques et peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible (Mandell et al. 2009). Cette résistance constitue donc une caractéristique propre à l'espèce et délimite en fait le spectre d'activité des antibiotiques. On parle ici d'espèces insensibles (Verhaegen et al. 2000).

4.2. La résistance acquise

A l'inverse, la résistance acquise n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre ; dans certains cas, elle peut concerner la grande majorité de ces souches comme, par exemple, la production de pénicillinase chez le staphylocoque qui intéresse plus de 90 % des souches (Courvalin, 2008). Mais comment les bactéries acquièrent-elles une résistance ? Pour la plupart, la pression micro-écologique exercée par la présence d'un antibiotique est un puissant stimulus pour déclencher une réponse d'adaptation

bactérienne (Sefton, 2002). Une bactérie sensible peut acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. Le premier a pour support le chromosome et définit donc une résistance chromosomique, le deuxième affecte les plasmides, les éléments transposables ou même les intégrons ; il s'agit d'une résistance extra-chromosomique (Lozniewski et Rabaud, 2010). Une même bactérie peut contenir plusieurs plasmides, comportant eux-mêmes plusieurs gènes de résistances ce qui explique le phénomène de résistance d'une bactérie à différentes familles d'antibiotiques (Mangin, 2016).

4.2.1. La résistance chromosomique

Il s'agit d'une mutation chromosomique occasionnant le remplacement d'une base de l'ADN par une autre et conférant une résistance spontanée à une famille d'antibiotique. A noter que cet événement est stable c'est-à-dire que cette résistance va passer aux générations suivantes des bactéries, donc à la descendance (Lavigne, 2007). La résistance chromosomique peut être spontanée, ce qui est très rare. De plus, dans la plupart des bactéries, les mutations se produisent spontanément à un taux d'environ 1 pour 10 millions à 10 milliards d'organismes. Les bactéries se reproduisent rapidement et parmi elles, il y aura toujours quelques mutants. S'il se trouve qu'un mutant est résistant aux antibiotiques dans l'environnement, après quelques générations, la plupart des survivants seront résistants à cet agent antimicrobien (Perović et al. 2018). Une fois qu'une mutation génétique se produit et provoque un changement dans l'ADN bactérien, le matériel génétique peut être transféré entre les bactéries par plusieurs moyens (Alanis, 2005).

4.2.2. La résistance extra-chromosomique

Dans ce cas, la résistance bactérienne est due à l'existence de structures génétiques extra-chromosomiques, telles que les plasmides et les transposons (Perović et al. 2018) qui peuvent être transférés d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes (Carattoli, 2001). Ce phénomène est moins stable que la mutation chromosomique, surtout en absence du facteur de sélection (la présence de l'antibiotique qui ne pourra pas détruire la colonie de bactérie résistante par rapport aux colonies n'ayant pas cette capacité), la bactérie redevient même sensible (Pilly, 2008).

a. Plasmide

Lors de l'épidémie de dysenterie de *Shigella* à la fin des années 1950, les microbiologistes japonais Ochiai et Akiba ont observé l'émergence simultanée de bactéries résistantes à trois antibiotiques qui sont généralement efficace, rendant les patients atteints de cette maladie insensibles à un protocole d'antibiothérapie habituellement efficace (**Nguyen et al.2009**). Plus tard, des microbiologistes japonais ont montré que cette résistance multiple se transmettait entre bactéries dans le tractus gastro-intestinal du patient, et que ces souches résistantes avaient d'autres structures d'ADN qui portaient des gènes de résistance en plus des chromosomes : ce sont les plasmides de résistance aux antibiotiques (**Hanbaz, 2021**). Ces derniers sont des éléments d'ADN extra-chromosomiques qui peuvent se répliquer indépendamment du génome bactérien. Les gènes de résistance peuvent s'associer à ces plasmides, par le biais d'un système de recombinaison homologue de la cellule, ou même par des mécanismes spécialisés tels que les intégrons et transposons. Une fois que le gène de résistance est présent sur le plasmide, il peut être transféré à toutes les espèces appartenant de la gamme des cellules hôtes du plasmide (**Muylaert et Mainil, 2013 ; Roy, 1997**). La transmission de ces plasmides se fait par conjugaison via des appendices de transfert, les fimbriae et les pili de conjugaisons localisés à la surface de la bactérie et codés par le plasmide (**Muylaert et Mainil, 2013 ; Roy, 1997**).

b. Transposons

Les gènes qui codifient cette résistance, les « gènes résistants » sont normalement situés dans des fragments d'ADN spécialisés appelés transposons qui permettent aux gènes de résistance de se déplacer facilement d'un plasmide à un autre (**Sefton, 2002**). Les transposons sont des fragments d'ADN "sauteurs" qui peuvent s'intégrer soit dans le chromosome soit dans des plasmides, en allant de l'un à l'autre (**Yala et al. 2001**).

Certains transposons peuvent contenir un fragment d'ADN spécial et plus complexe appelé « intégron », un site capable d'intégrer différents gènes de résistance aux antibiotiques et ainsi de conférer de multiples résistances aux antibiotiques aux bactéries qui les portent et les expriment (**Levy et Marshall, 2004**).

4.2.3. La résistance croisée

A noter que les bactéries sont capables d'échanger des gènes par transformation bactérienne, transduction par bactériophages, conjugaison bactérienne pour le transfert de

plasmides. La conjugaison, contrairement à la transduction, n'est pas spécifique d'espèce et est donc très impliquée dans la diffusion de gènes de résistance entre différentes espèces bactériennes. L'acquisition de plusieurs gènes par une bactérie entraîne une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques habituellement appelée multi-résistance. La recombinaison génétique peut suivre le transfert d'ADN d'une cellule à une autre (Chinedum, 2005).

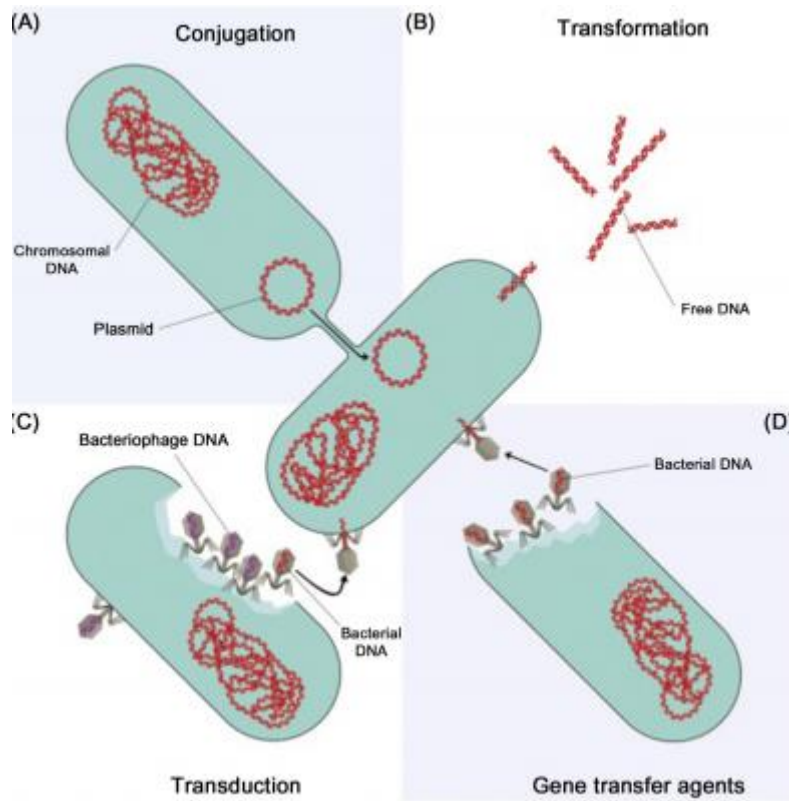


Figure 5. Mécanismes de transfert génétique. (A) Conjugaison, le transfert de gènes d'une cellule bactérienne à une autre nécessite un contact de cellule à cellule, (B) transformation, transfert de matériel génétique via de l'ADN libre, (C) transfert de gènes hôtes d'une cellule à une autre par un virus, (D) Agents de transfert de gènes comme les bactériophages, qui sont libérés lors de la lyse cellulaire. (Von Wintersdorff et al.2016)

5. Mécanisme de la résistance bactérienne

Pour agir, un antibiotique devra dans un premier temps pénétrer la bactérie, il devra ensuite arriver à sa cible puis se fixer pour produire son effet (Benseghir et Kdya, 2020). Le développement d'une résistance aux antibiotiques se produit lorsque le gène est capable de produire un effet biologique entraînant la perte de leur activité. Le motif commun à ces

différents mécanismes de résistance est d'empêcher l'interaction de l'antibiotique avec sa cible (Courvalin, 2008). Les principaux mécanismes sont illustrés dans la figure 10 et mettent en jeu quatre grands types de stratégies, toutes sous contrôle génétique, à savoir :

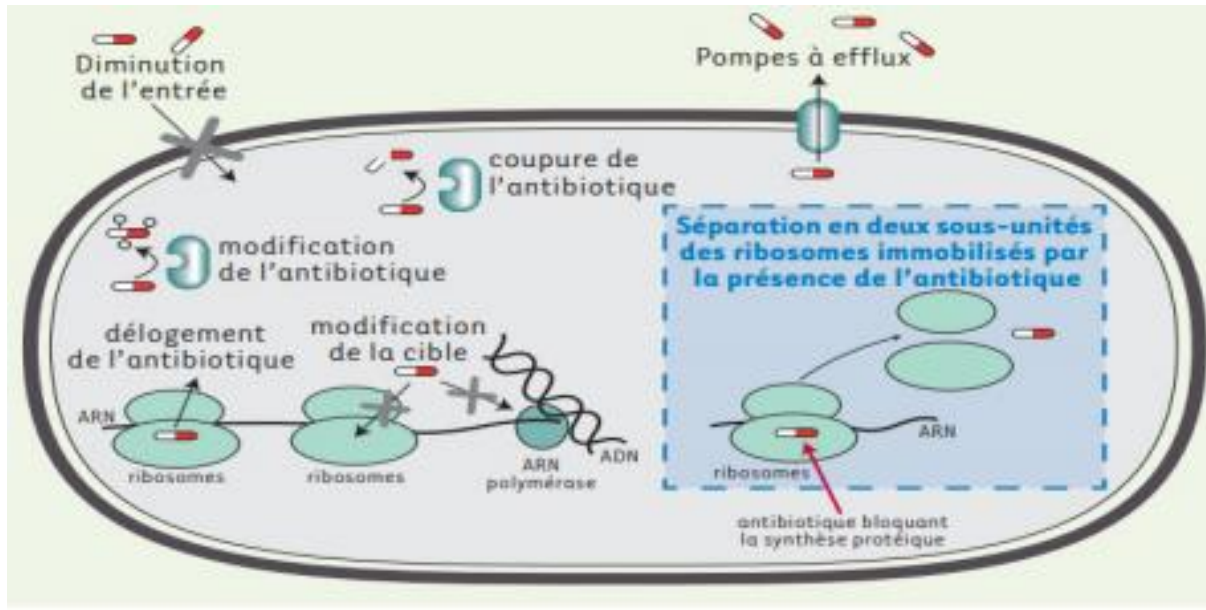


Figure 6. Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (Duval et Cossart ,2019).

5.1. Modifications de la molécule antibiotique

L'une des stratégies bactériennes les plus efficaces pour faire face à la présence d'antibiotiques consiste à produire des enzymes qui inactivent le médicament en ajoutant des fragments chimiques spécifiques au composé ou qui détruisent la molécule elle-même, rendant l'antibiotique incapable d'interagir avec sa cible (Munita et Arias. 2016).

5.1.1. Altérations chimiques de l'antibiotique

La production d'enzymes capables d'introduire des modifications chimiques dans la molécule antimicrobienne est un mécanisme bien connu de résistance aux antibiotiques acquise chez les bactéries Gram-négatives et Gram-positives. Fait intéressant, la plupart des antibiotiques affectés par ces modifications enzymatiques exercent leur mécanisme d'action en inhibant la synthèse des protéines au niveau des ribosomes. De nombreux types d'enzymes catalysent les réactions biochimiques : l'acétylation, la phosphorylation et l'adénylation (Wilson, 2014).

5.1.2. Destruction de la molécule antibiotique

Le mécanisme principal de la résistance aux β -lactames repose sur la destruction de ces composés par l'action des β -lactamases. Ces enzymes détruisent la liaison amide du cycle β -lactame, rendant l'antimicrobien inefficace (D'Costa et al .2011).

5.2. Diminution de la pénétration et de l'efflux d'antibiotiques

5.2.1. Perméabilité diminuée

Les bactéries ont développé des mécanismes pour empêcher l'antibiotique d'atteindre sa cible intracellulaire ou péri-plasmique en diminuant son absorption. Ce mécanisme est particulièrement important limitant l'afflux de substances du milieu extérieur. En fait, la membrane externe agit comme la première ligne de défense contre la pénétration de plusieurs agents antimicrobiens. Les molécules hydrophiles telles que les β -lactames, les tétracyclines et certaines fluoroquinolones sont particulièrement affectées par les changements de perméabilité de la membrane externe puisqu'elles utilisent souvent des canaux de diffusion remplis d'eau appelés porines pour traverser cette barrière (James et Winterhalter, 2008). Les altérations des porines pourraient être obtenues par 3 processus, (i) un changement dans le type de porines exprimées, (ii) un changement du niveau de leur expression et (iii) une altération de leur fonction (Nikaido, 2003). Certaines bactéries sont capables de produire un film épais appelé biofilm qui va ralentir la diffusion de l'antibiotique et l'exposer plus longtemps aux enzymes de dégradation (Fechner et al. 2012.).

5.2.2. Pompes à efflux

L'efflux actif des antibiotiques est pertinent pour ceux agissant à l'intérieur des bactéries, et a lieu lorsque le micro-organisme est capable de développer un mécanisme de transport actif qui pompe les molécules antibiotiques qui ont pénétré dans la cellule vers le milieu extérieur jusqu'à ce qu'il atteigne une concentration inférieure à celle nécessaire à l'antibiotique pour avoir une activité antibactérienne (Weinstein et Hooper, 2005).

5.3. Changements dans les sites cibles

Consiste à éviter l'action de l'antibiotique en interférant avec leur site cible. Pour y parvenir, les bactéries ont développé différentes tactiques, notamment la protection de la cible et des modifications du site cible. Ces changements peuvent consister en des mutations

ponctuelles dans les gènes codant pour le site cible, des altérations enzymatiques du site de liaison (par exemple, l'ajout de groupes méthyle), et/ou le remplacement de la cible d'origine. En utilisant ces stratégies, les bactéries sont capables de développer de nouvelles cibles qui accomplissent des fonctions biochimiques similaires à la cible d'origine mais ne sont pas inhibées par la molécule antimicrobienne. Une autre voie pour éviter l'action antimicrobienne consiste à « contourner » la voie métabolique qu'ils inhibent en surproduisant la cible antibiotique et la trans-glycosylation d'unités de peptidoglycane émergeant du cytoplasme. Comme mentionné, quel que soit le type de changement, l'effet final est toujours le même, une diminution de l'affinité de l'antibiotique pour le site cible (**Munita et Arias, 2016**).

5.3.1. Modification du récepteur

La modification du récepteur se produit lorsque la cible ou le récepteur intracellulaire de l'antibiotique est altéré par la bactérie, ce qui entraîne l'absence de liaison et par conséquent l'absence d'effet antibactérien. Des exemples de ce mécanisme comprennent les modifications de la conformation structurelle des protéines de liaison à la pénicilline observées dans certains types de résistance à la pénicilline, les altérations ribosomiques qui peuvent rendre les aminosides, les macrolides ou les tétracyclines inactifs, et les modifications de l'ADN-gyrase entraînant une résistance aux fluoroquinolones (**Sefton, 2002 ; Levy et Marshall, 2004**).

Il est probable que des mécanismes biologiques de résistance plus nombreux et plus récents se développeront à l'avenir. On ne peut qu'espérer qu'au fur et à mesure de leur apparition, nous pourrions utiliser ces nouveaux mécanismes comme de nouvelles cibles pour le développement de nouveaux antibiotiques efficaces (**Alanis, 2005**)

6. Étude de la résistance bactérienne *in vitro*

Une détermination rapide et fiable des résistances aux antibiotiques est indispensable pour le choix d'une antibiothérapie efficace et ciblée. La surveillance de la situation des résistances livre des informations essentielles pour évaluer la situation épidémiologique et prévenir ou ralentir la diffusion de la résistance bactérienne.

6.1. Méthodes phénotypiques

Les tests de sensibilité conventionnels aux antibiotiques dits tests phénotypiques mesurent le phénotype de résistance et sont utilisés pour caractériser la réaction des bactéries

en présence d'un antimicrobien. Les résultats sont fondés sur une combinaison de caractères observables (Billy, 2003).

Dans ce test, les bactéries sont exposées à différentes concentrations d'antimicrobiens, et leur capacité à se développer est testée en estimant la concentration minimale inhibitrice (CMI), correspondant à la plus faible concentration antibiotique qui inhibe la croissance bactérienne *in vitro* (Billy, 2003). Il en résulte trois catégories pour l'interprétation de l'efficacité d'un antibiotique :

- **Sensible** : probabilité élevée de succès thérapeutique avec un dosage standard.
- **Intermédiaire** : résultat thérapeutique incertain avec un dosage standard ou possibilité d'un succès clinique avec des concentrations antibiotiques plus élevées.
- **Résistant** : probabilité élevée d'échec thérapeutique (Egli et al.2018).

L'acquisition de gènes de résistance ou de mutations intrinsèques responsables de résistances bactériennes a été décrite pour plusieurs combinaisons microbes–antibiotiques. Malgré des techniques prometteuses, les techniques phénotypiques plus traditionnelles conservent dans certains cas un avantage, en particulier lorsqu'une résistance à un antibiotique est liée à plusieurs mécanismes (Billy, 2003).

L'antibiogramme est une technique phénotypique dont le principe consiste à déterminer la résistance ou la sensibilité d'un ou de plusieurs antibiotiques. La bactérie isolée à partir d'un prélèvement biologique est cultivée sur un milieu solide comprenant une concentration croissante d'antibiotique. (Jehl et al.2015)

A. Méthodes directes

Les méthodes directes mesurent la CMI de chaque antibiotique. Deux méthodes de référence sont recommandées, la méthode de dilution en milieu liquide et la méthode de dilution en gélose (Hanbaz, 2021).

- **Méthode de dilution en milieu liquide**

Cette méthode consiste à préparer de doubles dilutions d'antibiotiques dans un milieu liquide distribué dans des tubes à essai. Ces derniers sontensemencés avec une suspension bactérienne. Après incubation, les tubes sont examinés pour la croissance bactérienne visible comme en témoigne la turbidité (Reller et al. 2009). La CMI correspond à la concentration de l'antibiotique contenu dans le premier tube, qui reste clair après incubation. Cette méthode de référence ne permet de tester qu'un seul antibiotique

dans chaque gamme (Jehl et al.2015). Une variante de cette méthode utilise des microplaques au lieu des tubes. Il s'agit d'une microdilution en plaque (Hanbaz, 2021) où la CMI correspond à la concentration la plus faible inhibant encore la croissance bactérienne (Egli et al .2018)

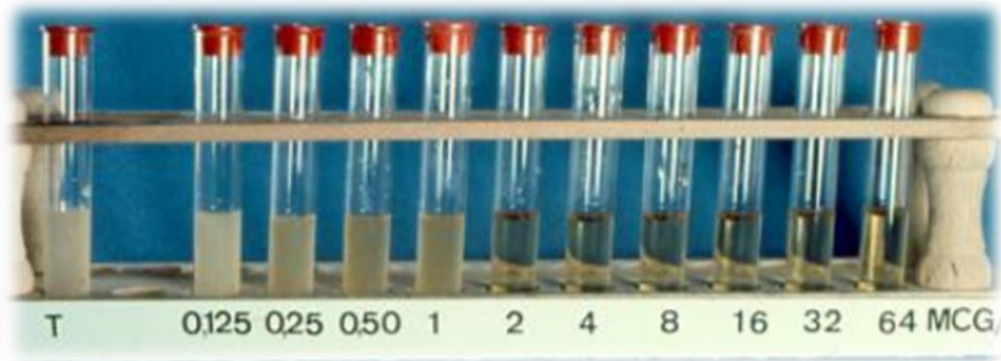


Figure 7. Détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide (Jehl et al .2015).

- **Méthode de dilution en gélose**

Cette méthode consiste à incorporer l'antibiotique à une concentration donnée dans la gélose. Une série de boîtes de Pétri est préparée avec des concentrations d'antibiotique croissantes, ensuite, les bactéries sontensemencées à la surface du milieu gélosé. Celles-ci sont incubées. La lecture est alors effectuée: il est facile de repérer l'emplacement de chaque souche et de noter la présence ou l'absence de croissance (Hanbaz, 2021).

- **E-test**

Dans le cadre du test en gradient de diffusion, une bandelette de papier avec une concentration croissante d'un antibiotique est appliquée sur la gélose de Müller-Hinton préalablementensemencée avec l'inoculum bactérien. Après incubation. Une ellipse d'inhibition de culture est tracée autour de la bandelette. La valeur de CMI est lue à l'intersection de la bandelette et de la culture bactérienne (Joly-Guillou, 2006 ; Egli et al. 2018).

- **Méthode des disques**

À la surface d'une gélose ensemencée en nappe, se dépose des disques contenant une quantité d'antibiotique. Après quelques secondes, l'antibiotique diffuse du disque vers la gélose selon deux directions, l'une horizontale, de façon régulière autour du disque, l'autre verticale vers le fond de la gélose. Cette double diffusion a créée donc un gradient de concentration décroissant vers l'extérieur à partir du bord du disque. Après ensemencement de la gélose par la bactérie à tester, la croissance de cette dernière se fait autour du disque, en formant un halo d'inhibition. Il existe une corrélation entre CMI et diamètre d'inhibition d'un couple antibiotique-bactérie (Jehl et al.2015 ; Hanbaz, 2021). Le diamètre est lié à la sensibilité de l'isolat et à la vitesse de diffusion du médicament à travers le milieu gélosé (Reller et al. 2009).



Figure 8. Test en gradient de diffusion et méthode de diffusion sur disque. Dans le test en gradient de diffusion (à gauche), une bandelette avec une concentration croissante d'antibiotiques est posée sur une plaque sur laquelle sont étalées des bactéries. La CMI peut être lue à l'intersection entre l'ellipse d'inhibition et la bandelette. Le procédé de diffusion sur disque (à droite) renseigne quant à la sensibilité aux antibiotiques sur la base du diamètre de la zone d'inhibition (Egli et al. 2018).

6.2 Automatisation de l'antibiogramme

L'automatisation de l'antibiogramme s'est également développée au cours des trente dernières années. Les bénéfices perçus sont d'abord la productivité et la rapidité des résultats et la haute standardisation des tests : les réactifs sont préparés industriellement, les conditions d'incubation sont contrôlées, la lecture et l'interprétation sont automatisées. Seule la préparation de l'inoculum est laissée à l'utilisateur et est en outre assisté par un instrument de mesure (Hanbaz, 2021).

6.3. Méthodes moléculaires

Pour mieux comprendre les mécanismes de la résistance aux antibiotiques et pour détecter rapidement la présence ou l'absence de déterminants génétiques de la résistance, de nombreux tests moléculaires ont été développés (Billy ,2003). Les techniques moléculaires peuvent offrir une détection des gènes de résistance de manière rapide et sensible à partir d'un isolat de culture voire d'un échantillon du patient. Ces gènes codent pour la capacité des bactéries à survivre et à se développer en présence d'antibiotiques. (Kaprou et al. 2021). Ces tests analysent le génotype de la bactérie alors que les tests de sensibilité conventionnels analysent le phénotype correspondant à l'expression du génotype (Egli et al.2018). L'étape initiale consiste donc à amplifier l'acide nucléique recherché ou acide nucléique cible (Egli et al. 2018).

La PCR est la technique d'amplification d'acide nucléique la plus couramment utilisée pour la détection des gènes de résistance (Kaprou et al. 2021) présents dans une bactérie ou même dans des échantillons provenant de différents environnements, pour autant que l'on dispose d'une séquence d'ADN pour le gène entier ou partiel, qui peut être utilisée pour concevoir les amorces de la PCR. (Anjum et al. 2017).

Un développement plus récent, en biologie moléculaire, est l'utilisation de l'amplification isotherme de l'ADN éliminant le besoin de thermocyclage, indispensable dans le cas des méthodes PCR traditionnelles (Kaprou et al. 2021).

De même, il a été récemment montré que les méthodes de séquençage du génome complet (WGS) sont une alternative réaliste pour évaluer la sensibilité aux antibiotiques d'une bactérie sur une série de 200 entérobactéries cliniquement intéressantes (Zankari et al. 2013).

La caractéristique unique de WGS est qu'il fournit des informations presque complètes sur le génome d'un isolat, qui peuvent être utilisées pour comprendre la base génétique des mécanismes de résistance aux antimicrobiens et différencier des isolats phénotypiquement identiques. Ce type d'information moléculaire peut être utilisé dans le développement de nouveaux diagnostics et traitements pour la résistance antimicrobienne. Il permet également de localiser les déterminants de la résistance sur le chromosome bactérien ou sur les plasmides, ce qui fournit des informations précieuses sur les voies de propagation de la résistance (OMS, 2020). La méthode du WGS permet en outre la classification des isolats dans un contexte moléculaire épidémiologique. De plus, tous les gènes séquencés peuvent être comparés avec des banques de données plus grandes, permettant également la détection de gènes de résistance plus rares (Egli et al. 2018)

Autre méthodes basées sur la spectrométrie de masse peuvent être utilisé pour la détection de la résistance antimicrobienne, en alternative à la caractérisation bactérienne génotypique ou phénotypique traditionnelle. La MALDI-TOF MS repose sur le protéome cellulaire et est capable de profiler des protéines (principalement ribosomiques, 2 à 20 kD) à partir d'extraits de cellules bactériennes entières créant une empreinte spectrale bactérienne ou des profils qui discriminent les micro-organismes au niveau du genre, de l'espèce et de la sous-espèce (**Kaprou et al. 2021**). Cette approche permet non seulement l'identification bactérienne, mais aussi l'identification d'un mécanisme de résistance, ce qui permet l'adaptation précoce de l'antibiothérapie probabiliste (**Marcadé, 2013**). MALDI-TOF MS est considéré comme une méthodologie fiable, rapide précise, facile à utiliser et rentable (**Kaprou et al.2021**)

Chapitre 03

**‘Résistance aux antibiotiques
chez les entérobactéries’**

L'émergence et la diffusion de la résistance aux antibiotiques représentent une menace majeure de santé publique aussi bien dans les pays développés que dans les pays en développement (**Ouédraogo et al. 2017**). Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries sont les plus redoutables car elles possèdent des mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques (**Ebongue, 2015**). L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'en 2050 cette résistance sera la première cause de mortalité dans le monde avec dix millions de cas contre 8,2 millions pour le cancer (**Amady et al. 2021**).

1. Résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries

1.1. Les β -lactamines

Les β -lactamines demeurent à l'heure actuelle les molécules les plus utilisées dans le traitement des infections dues aux entérobactéries (**Robin et al. 2012**). La famille des β -lactamines est une classe d'antibiotique qui comprend les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames (**Nys, 2021**). Ces antibiotiques agissent sur la synthèse du peptidoglycane (constituant majeur de la paroi bactérienne) (**Cattoir et Bicêtre, 2008**). Le mécanisme fondamental de la résistance aux β -lactamines chez les entérobactéries est la production de β -lactamases. Elle est observée naturellement dans la plupart des espèces. Historiquement, quatre groupes d'entérobactéries ont été identifiés sur la base de phénotype de résistance naturelle aux β -lactamines. Depuis, la création de nouveaux groupes a été proposée suite à l'évolution de la taxonomie et des connaissances dans le domaine des β -lactamases. Sept groupes d'entérobactéries peuvent être différenciés (**Robin et al. 2012**). Les phénotypes de résistance naturelle chez les entérobactéries sont présentés dans le **Tableau 5**. A la résistance naturelle des entérobactéries aux β -lactamines peuvent s'ajouter un ou plusieurs mécanismes de résistance acquise vis-à-vis de cette famille d'antibiotique. La résistance par acquisition ou hyperproduction de β -lactamases est le mécanisme le plus fréquemment rencontré chez les bactéries à Gram négatif et notamment les entérobactéries (**Prével, 2019**).

Tableau 5. Répartition des entérobactéries en fonction de leur profil de résistance naturelle.
(Philippon et Arlet ,2012)

Groupe de B lactamines	Groupe 0	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5	Groupe 6
entérobactéries	Salmonella spp- P.mirabilis	E.coli Shigella spp	Kl pneumoniae K.oxytoca C. koseri C.amalonicus, E.hermani	E.cloacae E.acrogenes S.marcessens C.freundii M.morganii H.Alvei P. rettgeri P.agglomerans	Yersinia enterocolitica Serratia fonticola	P.Vulgaris P.peneri	K. ascorba K.Cryocrescens K.Georgina R.Aqualitis C.Sedlakii E.persicina
Aminop	S	S/I	R	R	R	R	R/I:I
AminoP + CLA	S	S/I	S	R	R	S	S/I
CarboxyP	S	S	R	S	R	S	R/I:I
Carboxy P+ CLA	S	S	S	S	S:I	S	S
UréidoP	S	S	S:I	S	S	S	I/S:I
UréidoP+TZA	S	S	S	S	S	S	S
C1G	S	S/I	S	R	R	R	R/I
C2G	S	S	S	R/I/S ^b	S ^c	R	R/I/S:I
Céfotaxitine	S	S	S	R/I/S ^b	S	S	S
C3G	S	S	S	S	S	S	S:I ^d /I
C4G	S	S	S	S	S	S	S:I ^d /I
Carbapénèmes	S	S	S	S	S	S	S
Mécanismes de résistance		Céphalosporinase de classe C	Pénicillinase de bas niveau	Céphalosporinase de classe C inducible	Céphalosporinase de classe C et pénicillinase de classe A	Céphalosporinase de classe A inducible	B.Lactamases étendue de classe A

1.2. Mécanismes de résistance aux β -lactamines

Les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux β -lactamines.

A. Résistance non enzymatique

Cette résistance est liée à un défaut d'accumulation au contact de la cible (les PLP, protéines de liaison à la pénicilline) suite à une de ces mécanismes (**Bouaziz, 2019**).

- **Diminution de la perméabilité**

Les entérobactéries présentent une résistance naturelle aux molécules hydrophobes et de masse moléculaire élevée. Des résistances acquises dues à une diminution de perméabilité de la paroi par mutation ont été rapportées chez *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus* et *Enterobacter*. Ceci est suite à une altération des porines (**Ramoul, 2013**), soit par une modification structurale d'une des porines essentielles, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente. (**Eddair, 2021**)

- **Hyperproduction de système d'efflux**

Les pompes d'efflux sont des transporteurs membranaires permettant d'empêcher l'accumulation intracellulaire de l'antibiotique et assurent ainsi la résistance bactérienne à ce même antibiotique. Ces pompes peuvent conférer une résistance vis-à-vis d'une seule classe d'antibiotiques ou une multi-résistance vis-à-vis de plusieurs (le cas fréquent) (**Eddair, 2021**). Les résistances acquises aux β -lactamines liées à l'hyper-expression des systèmes d'efflux représente un mécanisme très répandu de résistance aux antibiotiques, ils n'ont été décrites que chez des bactéries à Gram négatif comme *E. coli*, et ont été clairement identifiées dans plusieurs études en particulier chez *K. pneumoniae* (**Robin, 2021 ; Foulal, 2013**)

- **Modification de la cible protéines de liaison à la pénicilline (PLP)**

Les cibles des β -lactamines sont des protéines enzymatiques (PLP) insérées dans la surface externe de la membrane cytoplasmique. Les PLP interviennent dans la synthèse du peptidoglycane le constituant principal de la paroi bactérienne (**Pieboji, 2007**). Cette résistance peut avoir lieu par des mutations dans les gènes chromosomiques codant pour les PLPs ou par l'acquisition de gènes étrangers codant pour des nouveaux PLPs ayant une affinité différente aux β -lactamines. Chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème et au mércillinam ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP2 et à une diminution de la quantité de PLP1. Cependant, ce type de mécanisme reste très rare chez ce groupe bactérien (**Kansaye, 2020**).

B. Résistance enzymatique

Chez les entérobactéries le mécanisme majoritairement impliqué dans la résistance envers les antibiotiques est représenté par la production des β -lactamases (**Michel-Briand, 2007**). Leur activité enzymatique implique l'inactivation des antibiotiques en provoquant l'ouverture du cycle β -lactame menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique en question (**Kansaye, 2020 ; Vodovar et al .2013**) de façon irréversible. En fonction du substrat hydrolysé, on les appelle donc les pénicillinases, les céphalosporinases, les BLSE (Les β -lactamases à spectre étendu) ou encore les carbapénémases (**Bouaziz ,2019**).

Les deux classifications couramment utilisées pour classer les β -lactamases sont celle d'Ambler et celle de Bush Jacoby et Medeiros . La classification structurale d'Ambler est basée sur la séquence peptidique du site enzymatique et comporte quatre classes . **Vodovar et al .2013**) Les β -lactamases de classe A, C et D comporte une sérine active

responsable de l'ouverture du cycle beta-lactame. À l'opposé, les β -lactamases de classe B ont besoin d'un ou deux atomes de zinc ionisé (Zn^{2+}) pour hydrolyser leur substrat et sont ainsi couramment appelées sous le nom de « métallo-enzymes » (Habibou, 2019). Les différents types de β -lactamases principalement amplifiées à partir d'entérobactéries sont résumés dans le Tableau 6 (Prével, 2019).

Dans la classification fonctionnelle de Bush-Jacobi-Medeiros, les β -lactamases sont classées dans les groupes 1 à 3 en fonction de la dégradation β -lactamines et des effets des inhibiteurs. Céphalosporinases du groupe 1 classées dans la classe C sur la base de la classification structurale moléculaire, et le gène impliqué était à l'origine chromosomique. β -lactamases moléculaires du groupe 2 autres que celles du groupe 1 ayant une sérine dans le centre actif et comprenant les classes A et D selon la classification structurale moléculaire. Métallo- β -lactamases du groupe 3 (MBL) et correspond à la classe B de la classification Ambler (Bush et al. 1995).

Tableau 6. Classification des β -lactamases selon Ambler (Legeay et al.2016)

Classe d'Ambler	Enzymes	Espèces	Mécanisme	Résistance	Sensibilité
A Serine-bêta-lactamase	Pénicillinasés	<i>Klebsiella</i> sp. <i>Citrobacter koseri</i>	Chromosomique intrinsèque	Pénicillines, C1G	Inhibiteurs C3G Carbapénèmes
	Pénicillinasés : TEM et SHV	Toutes	Plasmidique, acquis	Pénicillines, C1G C2G	Inhibiteurs C3G Carbapénèmes
	BLSE : TEM, SHV, CTX-M	Toutes	Plasmidique, acquis	Aztréonam, C3G	Inhibiteurs Céphamycine Carbapénèmes
	Carbapénémases KPC	Toutes (<i>Klebsiella</i> +++)	Plasmidique, acquis	Carbapénèmes Autres β -lactamase	Aucune β -lactamase
B Métallo-bêta-lactamase	Carbapénémases VIM, IMP, NDM	Toutes	Plasmidique, acquis	Carbapénèmes Autres β -lactamase sauf aztréonam	Aztréonam
C Céphalosporinase	AmpC inducible	Entérobactéries du groupe 3	Chromosomique intrinsèque	Pénicillines, C1G Céfoxitine	Inhibiteurs C3G Carbapénèmes
	AmpC déréprimée	Toutes	Chromosomique acquis	Céfoxitine, C3G	Inhibiteurs Carbapénèmes
	AmpC plasmidique	Toutes	Plasmidique, acquis	Céfoxitine, C3G	Inhibiteurs Carbapénèmes
D Oxacillinase	OXA spectre étroit	Toutes	Plasmidique, acquis	Pénicillines, C1G dont inhibiteurs	C3G Carbapénèmes
	Carbapénémases OXA-48 variants	Toutes	Plasmidique, acquis	Carbapénèmes Autres β -lactamase dont témocilline sauf C3G, aztréonam	Aztréonam C3G

Ambler molecular classification

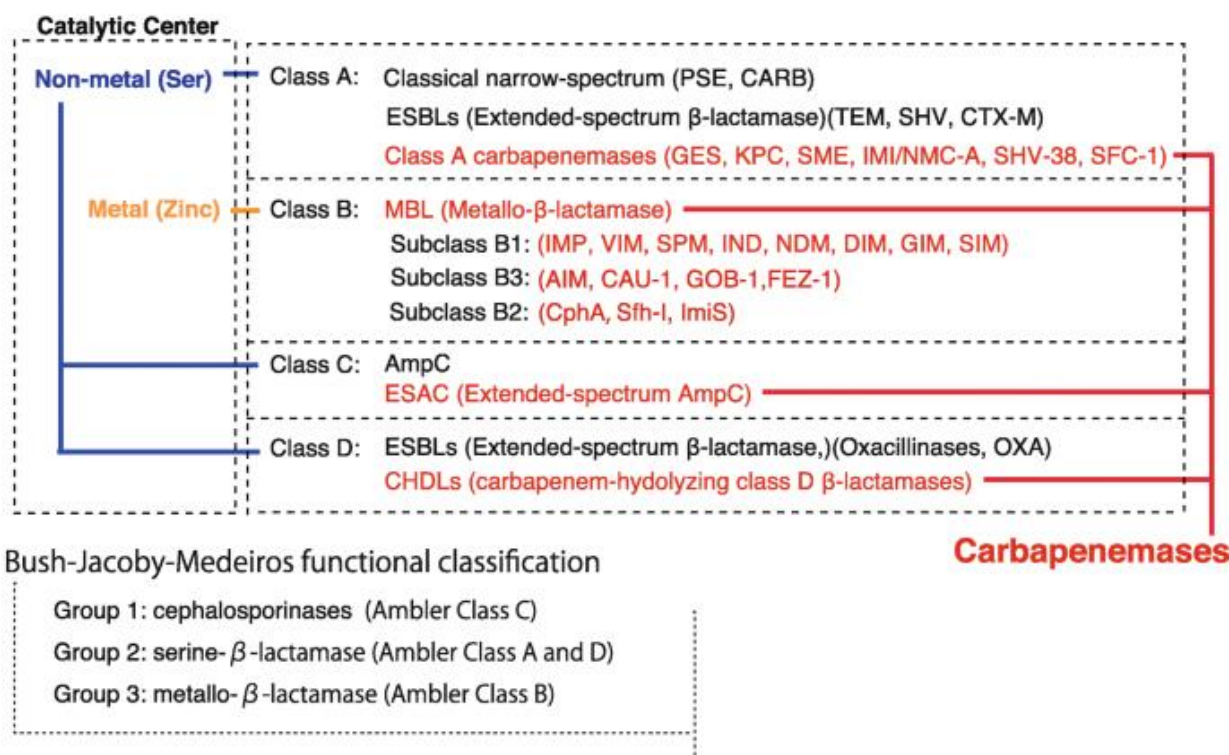


Figure 9. Classification moléculaire (Ambler) et fonctionnelle (Bush-Jacoby-Medeiros) des β -lactamase (Sawa et al. 2020).

B.1. Les BLSE

Le principal mécanisme de résistance des entérobactéries aux β -lactamines est la production d'enzyme les hydrolysant : les β -lactamases. Celles-ci se distinguent par leur très grande diversité. Jusqu'au début des années 2000, les BLSE diffusaient à l'hôpital principalement par l'intermédiaire de *Klebsiella pneumoniae* ou *Enterobacter sp* (Ruppé et Lastours, 2012). Classiquement, les BLSE sont définies comme des enzymes, appartenant à la classe A ou D de la classification d'Ambler (El jadi, 2012). Leur première description en tant que mécanisme de résistance transférable remonte à 1983 par Knothe et al. Il s'agit d'une résistance, hydrolysant toutes les β -lactamines à l'exception de la Céfoxitine (Céphamycine) et des carbapénèmes (Legeay et al. 2016) et sont inhibées par les inhibiteurs des β -lactamases tels que l'acide clavulanique, tazobactam et sulbactam. Les gènes de structure sont portés par des éléments génétiques comme les plasmides, les intégrons ou les transposons. (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006). L'épidémiologie des BLSE est étroitement liée à celle des entérobactéries, qui constituent leur réservoir privilégié. Parmi ces EBLSE (les deux espèces prédominantes son *E.coli* et *K. pneumoniae*). De manière plus sporadique, on

retrouve les genres *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Citrobacter* ou *Morganella* (Legeay et al.2016)

B.1.1.Types des BLSE

- **BLSE de type TEM**

A été signalée pour la première fois en 1965 à partir d'un isolat de *E. coli* d'un patient à Athènes, en Grèce, dénommé Témoinira (d'où la désignation TEM) (Paterson et Bonomo, 2005). De nombreux dérivés de TEM (> 150) ont été décrits à ce jour, dont plus de 100 avec un phénotype de BLSE. Bien que fréquemment retrouvées chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, les BLSE de type TEM ont aussi été rapportées parmi les autres membres de la famille des entérobactéries (Foulal, 2013) La majorité des β -lactamases de ce type dérivent par quatre à sept mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2). Ces mutations rendent l'enzyme capable d'hydrolyser les C3G (céphalosporine de 3^{ème} génération), mais aussi plus vulnérable à l'action des inhibiteurs (acide clavulanique) .Le TEM-1 est capable d'hydrolyser l'ampicilline, à un degré moindre l'oxacilline ou la céfalotine, et a une activité négligeable vis-à-vis des céphalosporines à spectre étendu (Bouaziz, 2019). Les variant TEM-3, TEM-4 et TEM-24 ont été identifiés chez des souches hospitalières et communautaires ainsi que des souches d'origine animale isolées en Algérie (Agabou et al. 2014 ; Brahmi et al.2014 ; Yahiaoui et al. 2015). Cependant, à noter que certains dérivés de TEM (environ 30) ne sont pas des BLSE mais présentent une diminution de sensibilité aux inhibiteurs des β -lactamases, ce sont les TRI (pour TEM Résistantes aux Inhibiteurs) (Cattoir et Bicêtre, 2008).

- **BLSE de type CTX-M (Céfotaximase-Munich)**

L'épidémiologie des BLSE a été bouleversée par l'émergence des enzymes de type CTX-M qui ont disséminé dans toutes les entérobactéries. Leur dénomination de Céfotaximase est liée à leur pouvoir hydrolytique plus important envers le Céfotaxime comparé à la Ceftazidime et « M » pour Munich indiquant leur premier lieu d'isolement en 1989 (Belbel et al.2014).

En effet, la plupart des souches productrices de BLSE sont maintenant des souches d'*E.coli* exprimant des BLSE de type CTX-M responsables d'infections communautaires, notamment urinaires. Dans le début des années 90, une diffusion massive des souches productrices de CTX-M (*Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*) a

été décrite en Argentine et dans les pays voisins, impliquant pour la plupart les CTX-M du groupe (Cattoir et Bicêtre, 2008)

A ce jour, Plus de 150 variant CTX-M ont été décrits et répartis en 6 groupes phylogénétiques, le groupe CTX-M-1, M-2, M-8, M-9, M-25 et dernièrement M-45, en fonction des similitudes de leurs séquences en acides aminés (Naas et al.2007 ; Rossolini et al.2008). Les gènes CTX-M à médiation chromosomique chez les espèces d'entérobactéries du genre *Kluyvera* (*K. ascorbata*, *K. cryocrescens*, *K. georgiana*), transmis aux entérobactéries par un plasmide, s'expriment alors fortement chez ces dernières. Le plasmide, l'élément incontournable à l'émergence des BLSE de type CTX-M est facilement transmissible par conjugaison in vitro entre entérobactéries. Cette propriété explique la dissémination facile des enzymes de type CTX-M dont l'importance augmente par rapport aux autres types de BLSE, notamment TEM et SHV (Anastay et al. 2013).

Certaines d'entre elles ont ensuite évolué vers un haut niveau de résistance à la Ceftriaxone telles que les enzymes CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-19, CTX-M-23 ou encore CTX-M-32 dérivant par simple mutation de CTX-M-1 (Philippon, 2013). La CTX-M-15, a largement diffusé à l'échelle mondiale et est à l'origine de la pandémie. Elle est actuellement prédominante et est notamment retrouvée chez *Escherichia coli* dont le clone ST-131, clone hyper-épidémique, a favorisé sa dissémination (Legeaya et al. 2016). Les enzymes CTX-M sont fortement inhibées par le tazobactam que par l'acide clavulanique (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

- **BLSE de type SHV (Sulfhydryl Variable)**

Les BLSE de type SHV peuvent être plus fréquemment retrouvées dans les isolats cliniques que tout autre type de BLSE (Paterson et Bonomo, 2005). Chez les souches de *K. pneumoniae*, le gène bla SHV, responsable de la résistance à l'ampicilline, est intégré dans le chromosome bactérien. Bien que les enzymes de type SHV sont essentiellement produites par les souches de *K. pneumoniae*, elles ont été aussi trouvées chez d'autres entérobactéries comme *Citrobacter freundii*, *E. coli* et *Enterobacter cloacae* (bouamri et Chrif, 2016)

Comme les dérivés de TEM, les mutations dans SHV1 (68% d'identité avec TEM-1) ont lieu classiquement au niveau de quelques positions (notamment 238 et 240). Enfin, le gène codant pour SHV-12 a été décrit en association avec le déterminant plasmidique de résistance aux

quinolones, QnrB (Cattoir et Biccêtre, 2008). Les β -lactamases de type SHV-1 et SHV-12 ne sont pas des BLSEs (Liakopoulos et al. 2016).

- **BLSE de type OXA (Oxacillinases)**

Les β -lactamases de type OXA sont ainsi nommées en raison de leurs capacités d'hydrolyse de l'oxacilline (Paterson et Bonomo, 2005). Les Oxacillinases (type OXA) sont des β -lactamases de la classe D d'Ambler et du groupe fonctionnel 2d de Bush et al. Elles confèrent la résistance à l'Ampicilline et à la Céfalotine, et sont caractérisées par une forte activité hydrolytique des Pénicillines M (Oxacilline, Cloxacilline) (Skali, 2016). Cependant, elles n'hydrolysent pas de façon significative les C3G et les C4G. De plus, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique (bouamri et Chrif, 2016). En fait, la plus courante des β -lactamases de type OXA, OXA-1, a été trouvée dans 1 à 10 % des isolats d'*E.coli* (Paterson et Bonomo, 2005).

- **Autres types de BLSE**

Une variété d'autres β -lactamases qui sont des enzymes de classe A à médiation plasmidique ou associée à des intégrons ont été récemment découvertes. Ce ne sont pas de simples dérivés mutants d'aucune des β -lactamases connues (Paterson et Bonomo, 2005). Une β -lactamase de type VEB (Vietnam extended spectrum β -lactamase), elle confère une résistance de haut niveau à la Ceftazidime, au Céfotaxime et à l'Aztréonam, qui est inversée par l'acide clavulanique. Une β -lactamase identique a également été retrouvée chez *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii* (Paterson et Bonomo, 2005). Autre BLSE de type GES (Guyana Extended-Spectrum Beta-lactamase) sont de plus en plus rapportées chez les bacilles Gram négatif, notamment *E.coli* et *K.pneumoniae*. GES-1 a été initialement décrite chez une souche de *K.pneumoniae*. (Skali, 2016)

B.2. Les Céphalosporines (Céphalosporinases de classe C AmpC β -lactamases)

Avec l'introduction en thérapeutique des céphalosporines de 3ème génération (C3G), les entérobactéries ont rapidement développé à leur égard des mécanismes de résistance responsables d'échecs thérapeutiques. Ce fut, en 1980, la sélection de mutants

hyperproducteurs de la Céphalosporinase chromosomique (type AmpC) (**Medeiros, 1997**) naturellement rencontrée chez certaines espèces d'entérobactéries (*Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *S.marcescens*...). Par la suite, en 1983, d'autres espèces d'entérobactéries non productrices d'AmpC ont, à leur tour, développé la résistance aux C3G par synthèse de β -lactamases plasmidique (**Ben Redjeb et al.1999**). Les β -lactamases AmpC sont des céphalosporinases cliniquement importantes présentes chez nombreuses entérobactéries comme *Enterobacter* spp, *Citrobacter freundii* et *Serratia marcescens* et de quelques autres organismes (**Jacoby, 2009**). Elles sont résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases (**Rodriguez-Villalobos et Struelens ,2006**). De plus, les gènes de la β -lactamase de classe C peuvent être présents dans des plasmides transférables (**Delgado-valverde et al. 2013**). Ce type d'enzyme présente un phénotype de résistance plus large que les BLSE lors de surproduction (gène du métabolisme des peptidoglycanes, mutation dans ampD). En plus de la résistance au C3G, il est associé à une résistance à la Céphamycine (Céfoxitine, Céfotétan) et aux inhibiteurs enzymatiques tels que l'acide clavulanique. (**Philippon et Arlet, 2006**). Ces enzymes dites AmpC ont été décrites chez nombreuses entérobactéries (*Enterobacter cloacae* et *Serratia marcescens*) (**Alouache, 2012**). Ces céphalosporinases sont cliniquement importantes chez :

- *Citrobacter.freundii* : est naturellement résistant à l'amoxicilline-clavulanate, et à la Céfoxitine par production des béta-lactamases chromosomique de la classe C
- *Enterobacter* spp. : sont naturellement résistant à l'amoxicilline-clavulanate ; l'amoxicilline ; Céphalotine et à la Céfoxitine par production des béta-lactamases chromosomique de la classe C
- *E coli* ; *Morganella morganii*, *Klebsiella (oxytoca et pnomoniae)*; *Providencia stuartii*; *Proteus vulgaris*; *Serratia marcescens*; productrices des béta-lactamase chromosomique certaines de classe A et d'autre de classe C
- *Salmonella* et *Proteus mirabilis* pas de Céfalosporinase chromosomique de classe C. Ces enzymes sont capables d'hydrolyser les céphalosporines y compris les Céphamycines (Céfoxitine) ainsi que les pénicillines, mais pas la Céfépime. Ces β -lactamases sont résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases (**Rodriguez-Villalobos et Struelens ,2006**)

B.3. Les carbapénèmases

Les carbapénèmes constituent souvent le traitement de dernier recours des infections associées aux germes multi-résistants producteurs de BLSE. Cependant, les entérobactéries ont développé des mécanismes de résistance à l'encontre de cette classe puissante d'antibiotiques, notamment par la production de carbapénémase (Carrër, 2010). Le problème de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries s'est élevé actuellement par celui de la résistance aux carbapénèmes (Nordmann et Carrer, 2010). Ce dernier, peut résulter de mécanismes combinés associant des β -lactamases ayant une très faible activité de carbapénémase et une diminution de perméabilité de la membrane externe, ou de la présence de véritables carbapénèmases (Nordmann, 2010).

Les carbapénèmases les plus importantes appartiennent à trois classes principales. **Classe A** : correspond principalement aux enzymes de type *K.pneumoniae* productrice de carbapénémase décrites pour la première fois aux États-Unis mais, désormais présentes dans le monde entier ;

Classe B : correspond aux métallobêta-lactamases de type VIM (pour Verona Imipénémase), IMP (imipénémase) et NDM (New Delhi métallobêta-lactamase) ; **Classe D** : correspond essentiellement aux enzymes de types Oxacillinases, comprenant OXA-48, qui présentent 5 variantes (OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA204, OXA-232 ; et les enzymes récemment décrites OXA 244 et OXA-245. Ces enzymes circulant entre les pays méditerranéens et se disséminant progressivement vers d'autres zones géographiques (Nordmann et al. 2012). Elles hydrolysent fortement les carbapénèmes mais pas ou peu les céphalosporines de 3^e génération (à l'exception d'OXA-163). Toutefois, leur présence est souvent couplée à la présence de BLSE, ce qui conduit à une multi résistance de ces souches sécrétrices (Ouédraogo et al. 2017). L'émergence de la résistance aux carbapénèmes (imipénème, méropénème, doripénème, ertapénème) est l'un des problèmes les plus importants posé par la résistance aux antibiotiques car il existe peu d'alternatives thérapeutiques possibles (Nordmann, 2010).

1.2 . Mécanismes de résistance des entérobactéries aux aminosides

Plusieurs mécanismes chez les bactéries confèrent une résistance aux aminosides, ce qui permet d'expliquer la résistance de plus de 95 % des souches d'entérobactéries (Perichon et al. 2008).

1.2.1. Réduction de l'accumulation intra-cytoplasmique

La pénétration des aminosides dans les bactéries est un phénomène de diffusion passive à travers des porines de la membrane externe et de transport actif requérant de l'énergie au niveau de la membrane interne (**Durante-Mangoni et al, 2009**). Les entérobactéries disposent de systèmes actifs d'efflux dont certains sont exprimés de façon constitutive, d'autres sont contrôlés et exprimés par différents systèmes de régulation et enfin plusieurs sont encore inductibles par diverses mutations (**Wang et al. 2001**). Ces systèmes d'efflux conduisent à une diminution de l'accumulation des aminoglycosides à l'intérieur de la cellule (**Durante-Mangoni et al, 2009**).

1.2.2. Modification de la cible ribosomale

Deux activités de méthylation de l'ARN 16S modifient le site A aux positions G1405 (N7) et A1408 (N1) (**Belbel, 2014**). Dix gènes de méthylation ont été décrits *arm A*, *rmt A*, *rmt B*, *rmt C*, *rmt D*, *rmt E*, *rmt F*, *rmt G*, *rmt H* et *npm A* (**Deng et al. 2013**) avec prédominance de *arm A* et *rmt B* (**Wachio et Arakawa, 2012**). Le gène *arm A* a été détecté pour la première fois en 2003 en France chez une souche de *K.pneumoniae* montrant un haut niveau de résistance à tous les aminosides cliniquement très actifs (**Galimand et al. 2003**). Le gène *rmt B* a été largement répandu chez les entérobactéries de l'Asie orientale, de l'Europe et de l'Amérique (**Fritsche et al. 2008 ; Kang et al. 2008**). La plupart des gènes de méthylation sont situés sur des plasmides transférables, et peuvent être facilement transférés à d'autres espèces bactériennes, ce qui a favorisé leur propagation qui est devenue actuellement une préoccupation mondiale (**Hidalgo et al. 2013**). Les méthylases d'ARNr 16S à médiation plasmidique se trouvent dans le monde entier chez les membres de la famille des Enterobacteriaceae (**Zhou et al. 2016**).

1.2.3. Les enzymes-modifiant les aminosides (AME)

Les AME sont les plus couramment rencontrés, l'inactivation enzymatique, par trois classes d'enzymes : les aminoglycosides acétyltransférases (AAC), les aminoglycosides nucléotidyltransférases (ANT) et les aminoglycosides phosphotransférases (APH) (**Tani et Arlet, 2014**). APH c'est une enzyme modificatrice peut parfois neutraliser l'action d'un aminoside par une liaison affine sans pour autant modifier sa structure. Lorsque la bactérie produit une grande quantité de phosphotransférases qui reconnaît la tobramycine sans la modifier celle-ci peut être piégée dans un complexe enzyme-substrat fonctionnellement

inactif (Menard et al. 1993). Les gènes codant pour ces enzymes sont le plus souvent portés par des plasmides, des transposons ou contenus dans des intégrons (Doi et Arakawa, 2007).

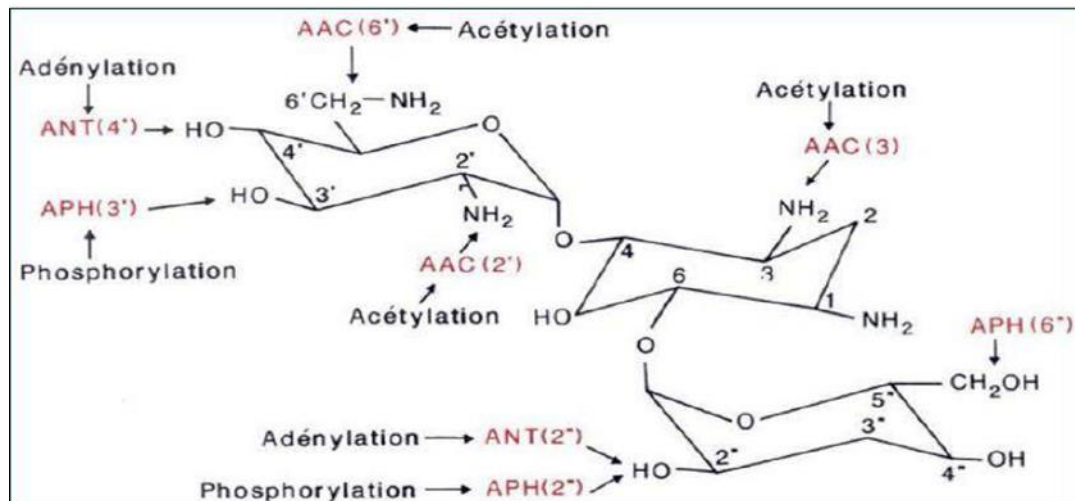


Figure 10. Inactivation enzymatique des aminosides (Courvalin et al. 2006)

1.3. Mécanismes de résistance aux quinolones et fluoroquinolones

Ce sont des antibactériens de synthèse dérivés de l'acide nalidixique, chef de file des quinolones classiques longtemps indiquées dans le traitement des infections urinaires mais qui ont été remplacées par les fluoroquinolones (norfloxacine, ofloxacine et ciprofloxacine, moxifloxacine). Ils présentent une activité beaucoup plus intense avec une meilleure diffusion tissulaire et un spectre plus large sur les entérobactéries (Honoré et al. 2006).

1.3.1. Support génétique chromosomique

A. Perméabilité membranaire réduite

La plupart des fluoroquinolones traversent de manière passive la membrane externe des BGN (bactéries à Gram négatif) par les porines bien que certaines molécules soient capables de diffuser directement à travers la bicouche phospholipidique (Jacoby, 2005). Les mutations intervenant dans les gènes codant pour ces porines sont responsables de résistance de bas niveau et permet d'expliquer les différences d'efficacité observées parfois entre

certaines composés de la famille des quinolones (**Okusu et al. 1996**). Par exemple, chez *E. coli*, la dé-répression du loci de régulation *mar A* pour «multiple antibiotic resistance» conduit à une diminution de la sensibilité aux fluoroquinolones via une surexpression de la pompe à efflux AcrAB-TolC (**Okusu et al. 1996**) et une sous-expression des porines OmpF (**Muylaert et Mainil, 2013**).

B. Pompes à efflux

Chez les bactéries, il existe des pompes présentes uniquement chez les Gram négatifs, c'est le cas de la Pompe RND (Resistance-Nodulation-cell Division.). Le mécanisme de résistance par le système des efflux réside dans l'excrétion active de l'antibiotique par les pompes à protons, il s'agit là d'un mode de résistance intrinsèque des bactéries (**Schumacher et al. 2006**).

Chez *E. coli*, la pompe à efflux AcrAB-TolC, sous contrôles multiples, joue un rôle majeur dans la résistance par efflux aux fluoroquinolones. Les mutations survenant dans le gène *acrR* (répresseur d'AcrAB) augmentent l'activité de la pompe (**Wang et al. 2001**). *E. coli* possède pas moins de vingt pompes à efflux responsables de résistances à de multiples antibiotiques (**Nishino et Yamaguchi, 2001**).

C. Modification de la cible enzymatique

Chez les entérobactéries, l'ADN gyrase est plus sensible à l'inhibition médiée par les fluoroquinolones, et les mutations responsables de résistance surviendront d'abord au niveau de la sous-unité Gyr A. Ces mutations impliquent des substitutions en acides aminés qui apparaissent dans une région particulière nommée QRDR (Quinolone Resistance Determining Région) (**Muylaert et Mainil, 2013**). Ainsi, le domaine QRDR de la sous unité Gyr A de *E. coli* se situe entre les acides aminés 67 et 106, avec des mutations au niveau des acides aminés en positions 83 et 87. Cette région QRDR est proche de la tyrosine 122 impliquée dans la liaison covalente de l'enzyme aux groupements phosphate de l'ADN (**Martinez et al. 2010**).

1.3.2. Support génétique plasmidique

Ces gènes de résistance plasmidique sont regroupés sous l'appellation PMQR (Plasmid-Mediated Quinolones Resistance). Ainsi que Trois mécanismes de résistance plasmidique aux quinolones et fluoroquinolones ont aussi été décrits chez les entérobactéries (Tani et Arlet, 2014).

- **Protection de la cible**

Les gènes *qnr* ont été identifiés chez différentes souches d'entérobactéries et souvent associés à la production de BLSE (Muylaert et Mainil, 2013). Ce sont les gènes *qnr A*, *qnr B*, *qnr S*, *qnr C*, *qnr D* (Guillard et al. 2009). Les protéines codées par ces gènes sont capables de se fixer sur les topoisomérases II et IV en compétition avec l'ADN. La réduction du nombre des complexes binaires topoisomérases-ADN diminue la fixation ultérieure des fluoroquinolones sur les topoisomérases (Tran et al. 2005). Les souches porteuses du gène *qnr* appartenaient le plus souvent aux espèces *E. coli*, *K. pneumoniae* et récemment *E. cloacae* qui sont toutes multi-résistantes, en particulier résistantes aux céphalosporines de 3ème génération par production de BLSE (Honoré et al. 2006).

- **Pompes à efflux plasmidique**

En 2002, au Japon une nouvelle pompe à efflux, nommée Qep A à été découverte. Elle est codée par un gène situé sur un plasmide de résistance d'une souche clinique isolée de prélèvement d'urine (Cattoir et al. 2008). Cette pompe à efflux confère une résistance de bas niveau en produisant une augmentation de la CMI de fluoroquinolones hydrophiles comme la ciprofloxacine, l'enrofloxacine et la norfloxacine de 32 à 64 fois. Depuis la découverte du gène *qepA*, un variant, nommé *qep A2*, qui présente deux substitutions en acides aminés a été mis en évidence. Ce variant confère un phénotype de résistance similaire à *qepA*, renommé depuis *qepA1* (Muylaert et Mainil, 2013). Le gène *qepA1* localisé sur un plasmide conjugatif du groupe IncFI se trouve sur un transposon composite encadré de deux séquences d'insertion IS26 et comprenant le gène *rmt B*, codant pour une résistance de haut niveau aux aminosides d'usage thérapeutique (Park et al. 2009 ; Bathokédéou et al. 2014).

- **L'inactivation enzymatique**

Due à L'enzyme bi-fonctionnelle AAC [6]-Ib-cr. Ce déterminant a été découvert pour la première fois en 2006 chez une souche d'*E. coli* qnrA-positive en Chine. Il se distingue de son progéniture, l'enzyme AAC [6]-Ib, par le remplacement de deux acides aminés Trp102Arg et Asp179Tyr et confère une résistance de bas niveau à la ciprofloxacine et à la norfloxacine (**Tani et Arlet, 2014**). En générale, AAC [6]-Ib-cr est identifié comme gène cassette au sein d'intégrons de classe 1 (**Meradi et al. 2011**).

1.4. Autres antibiotiques

La fosfomycine a été utilisée pour le traitement des infections dues à des bactéries sensibles et multirésistantes (MDR). Il inhibe la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne (**Falagas et al.2019**).Chez les Enterobacteriaceae, les enzymes de modification de la fosfomycine sont codées par des gènes fréquemment retrouvées sur les plasmides, les transposons ou au sein des intégrons permettant une dissémination rapide. On s'inquiète de plus en plus du risque de propagation de ces bactéries, en particulier *Escherichia coli* et *Salmonella*, à l'interface homme-animal-environnement (**Zurfluh et al.2020**).Autre classe d'antibiotiques , les tétracyclines qui sont largement utilisés pour traitement et prévention des maladies microbiennes (**Dang et al.2008**).Le principal mécanisme de résistance à la tétracycline implique un système d'efflux actif inductible par lequel la concentration intracellulaire de ces composés est réduite (**Speer et al, 1992**). Les gènes d'efflux (tet A, B, C, D et E) sont fréquemment détectés chez les membres de la famille des Enterobacteriaceae qui comprennent *Salmonella enterica*, *Shigella* et *Escherichia coli* pathogène (**Tao et al.2010**). Pour les sulfamides, Les gènes de résistance aux antimicrobiens jouent un rôle important dans la médiation de la résistance aux sulfamides chez les bactéries Gram-négatives (**Gong et al.2018**).Le mécanisme de résistance le plus commun et le plus important à ces agents bactériostatiques est une enzyme cible altérée, généralement à médiation plasmidique (**Sköld, 2000**). Avec trois variantes résistantes du gène décrit à ce jour, sulII, sulIII et sul III. (**Gong et al.2018**).D'autre part, plusieurs espèces d'entérobactéries peuvent acquérir de la résistance à la colistine par le biais de plusieurs mécanismes tels que la modification post-traditionnelle du LPS. Cette modification tend à empêcher les polymyxines de se lier à la surface de la bactérie et à pénétrer à l'intérieur de la cellule pour exercer leur activité bactéricide. (**Jeannot et al. 2017**).

Partie 2

Méthodologie

État de la question et Objectifs spécifiques

L'importance des antibiotiques est considérable en médecine en raison de leur efficacité pour combattre les infections bactériennes. L'usage massif et irrationnel et la mauvaise prescription de ces antibiotiques restent un problème majeur pour la santé publique qui entraîne des conséquences négatives sur le plan médical, se manifestant par le développement de la résistance bactérienne. La première étape, lorsqu'on aborde le problème de la résistance est de mesurer l'ampleur du problème, de l'analyser et d'en comprendre les causes. Cette partie a été structurée selon trois axes de recherche qui vont être développés :

- Dans un premier temps, nous avons réalisé un questionnaire. Ce dernier est un instrument de collecte de l'information permettant d'entrer en contact avec des enquêtés à travers des questions de différents types. Dans cette enquête le questionnaire est auto administré, Il a pour but d'évaluer les connaissances des étudiants sur la résistance bactérienne ainsi que leurs habitudes en ce qui concerne l'utilisation des antibiotiques. Ceci, afin de savoir s'ils sont au courant de cette résistance et des facteurs qui en sont la cause.
- Suite à ce questionnaire, nous avons procédé à une collecte des données relatives aux quantités des antibiotiques livrées qui apparaissent comme un outil intéressant pour la surveillance. Le développement de la résistance aux antibiotiques qui était initialement perçue comme un problème limité uniquement à l'hôpital s'est propagé même en ville. Le suivi de ces données qui va être étudié dans cette partie, est un type de surveillance ayant pour objectif d'estimer la consommation d'ATB.
- Troisièmement, cette étape consiste à élaborer une revue systématique de la littérature (Articles de recherches) portant sur l'épidémiologie de la résistance des entérobactéries au niveau national en se focalisant sur la prévalence, les pathogènes associés ainsi que les taux des résistances et les mécanismes signalés.

Partie 1. Évaluation des connaissances sur la résistance bactérienne et l'antibiothérapie

1.1. Population enquêtée

Les étudiants de l'université constituent une partie non négligeable de la population. Cette enquête a concerné 207 sur 879 étudiants en Master (1 et 2 année). Ce choix est dicté par le fait qu'à nos yeux, c'est à partir de ces niveaux d'étude que les étudiants commencent à

avoir une idée sur la résistance bactérienne. Toutes les spécialités de la biologie appliquée et de biologie des êtres vivants sont incluses dans cette étude.

1.2. Matériel et recueil de données

Il s'agit d'une étude observationnelle transversale descriptive mono-centrique. Le matériel utilisé est un questionnaire (**Annexe 5**). Il comporte des paramètres sociodémographiques (sexe, âge, niveau et spécialité) et dix-huit (18) questions à réponses fermées et aux choix multiples axées essentiellement sur la résistance bactérienne et la consommation des antibiotiques. D'autre part, il a été expliqué au début du questionnaire que les réponses sont utilisées à des fins académiques et que la participation est volontaire et anonyme. La collecte des données s'est déroulée durant la période allant du 22 février au 13 mars 2022.

Sur les 245 questionnaires distribués, nous n'avons récupéré que 237. Sur ces derniers, 30 n'ont pas pu être inclus dans l'analyse. Les causes de cette exclusion sont des questionnaires qui sont remplis :

- d'une façon aléatoire.
- d'une façon illogique.
- avec la majorité des items non remplis.

Finalement, **207** questionnaires sont retenus pour l'analyse.

1.3. Analyse de données

Les résultats des questionnaires ont été recueillis dans un tableau Excel. Sur l'ensemble des questions posées, seulement dix ont répondu à nos critères et ont présenté une valeur scientifique importante pour notre étude. Parmi ces dernières, certaines sont regroupées pour être analysées une fois. D'autres auxquelles nous avons dû ajouter un certain détail afin d'obtenir une analyse plus approfondie et mettre certains résultats en lumière.

Partie 2. Consommation des antibiotiques en ville et au milieu hospitalier

2.1 Matériel et recueil de données

La ville de Tébessa, chef-lieu de wilaya située à l'Est du pays, a été le centre d'intérêt de notre étude. Elle compte selon les dernières statistiques environ 245 409 habitants, et dispose de 3 hôpitaux, et de 87 officines pharmaceutiques selon le site «**annumed.sante-dz.com**» à la date où nous avons mené notre enquête.

Les données de ventes de médicaments sont des facteurs intéressants pour une meilleure surveillance épidémiologique. C'est la raison pour laquelle nous avons mené une enquête transversale auprès des pharmacies et d'hôpitaux de cette ville pour le recensement des quantités d'antibiotiques livrées en 2021. Vu que le nombre d'officines au niveau de la ville est trop élevé et pour que notre enquête soit significative, nous avons ciblé celles qui enregistrent une affluence plus importante du reste des pharmacies. Suite à quoi, nous avons dû diviser notre plan en 6 zones. De façon à avoir au moins une officine jugée importante dans chaque zone ; Cette façon d'agir nous a permis de récupérer des données auprès de 17 pharmacies y compris celles dépendantes des (2) deux hôpitaux publics (environ 19 % de total). Cette collecte s'est déroulée en (4) quatre périodes représentées sur la Figure 11.

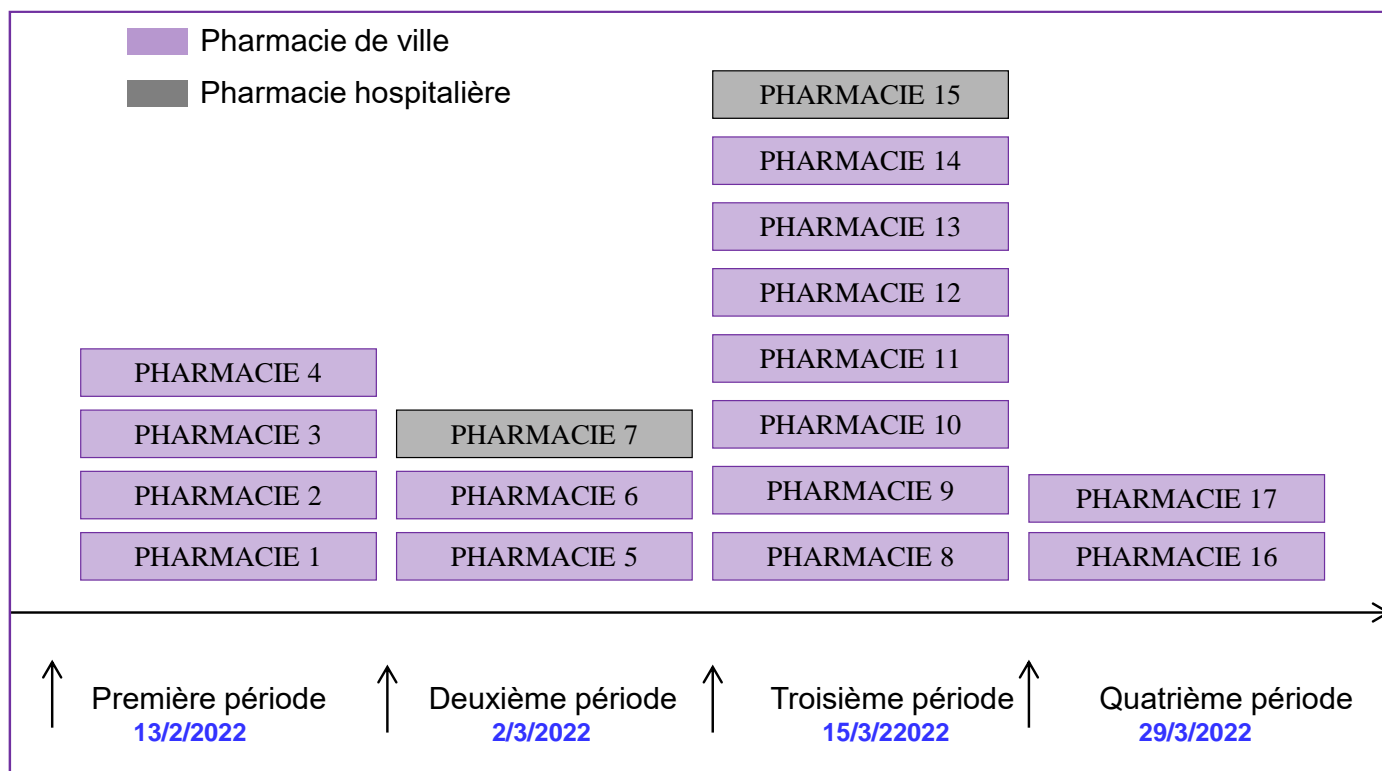


Figure11. Les différentes périodes de collecte des données

La collecte de données a été faite en demandant uniquement le nombre des unités livrées au cours de l'année 2021 pour les différents types d'antibiotiques destinées pour traiter les infections à bacilles à Gram négatifs (Entérobactéries), les doses de chaque antibiotique et leurs voies d'administration. Une fiche a été établie pour qu'elle soit remplie par les pharmaciens sur la base de données des logiciels dont ils disposent. Les données de ventes

analysées dans notre travail sont issues les bases de données, à savoir : *EASYPharm*, *IntelliX* et *XpertPharm*.

2.2. Analyse des données

L'analyse des données a été effectuée après une synthèse sur Excel. Seuls les antibiotiques actifs sur les entérobactéries sont pris en considération. Pour une meilleure exploitation des résultats, les données ont été traitées par famille d'antibiotiques.

Partie 3 : Étude systématique de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques en Algérie (2010-2022)

3.1. Note

Une revue systématique est un travail de collecte et de synthèse des connaissances, permet d'identifier, de sélectionner, d'évaluer et résumer des études primaires, des données et des résultats de recherche sur une question précise. Elle utilise une méthodologie très rigoureuse, reproductible, basée sur un protocole afin de réduire la possibilité de biais et d'identifier toutes les preuves publiées et non-publiées sur un sujet en particulier, dans le but d'avoir une vue d'ensemble objective et transparente sur ce sujet. Basant sur les questions suivantes :

Est-ce qu'une autre revue systématique a déjà été réalisée sur le même sujet ? Si oui, est-elle récente ? Si oui, peut-on reformuler la question ? Si non, peut-on mettre à jour la revue systématique existante ?

Pourquoi faire une revue systématique ?

- Pour examiner et critiquer les affirmations parfois contradictoires avancées dans des publications de plus en plus nombreuses.
- Pour soulever les problèmes de fiabilité pouvant entacher la pratique factuelle et l'information scientifique en général.
- Pour combler le manque de temps et de compétences informationnelles des chercheurs pour repérer, analyser et trier cette information.
- Pour éclairer la prise de décision et aider à bâtir de nouvelles politiques et normes.

« Les revues systématiques auront une importance fondamentale pour l'avancée des connaissances, puisqu'elles permettent d'identifier certaines lacunes et de développer de nouveaux domaines de recherche. »

3.2. Collecte et sélection des sources de données

Les données utilisées pour estimer la prévalence des résistances des entérobactéries au niveau national proviennent de différentes sources. La totalité de ces données provenaient seulement de publications évaluées par les pairs y compris des d'enquêtes sanitaires nationales. Des données provenant d'autres sources telles que les rapports des autorités ont été exclus, s'il y n'avait pas suffisamment d'informations permettant d'évaluer leur qualité. Des sources de données contenant des informations méthodologiques suffisantes sur des domaines d'intérêt clés, comme la méthode de diagnostic, la représentativité de l'échantillon, ont été incluses. Les sources de données publiées avant 2010 ont été exclues. Pour évaluer la qualité des données disponibles, chaque source a été examinée, en appliquant un processus analytique qui tient compte des **critères d'inclusion** résumés et indiqués ci-dessous :

- **Représentativité de l'échantillon** : Représentation régionale ou locale.
- **Type de publication** : Publication évaluée par les pairs,
- **Ancienneté de la source de données** : Seules les données publiées ou non entre (2010-2022) ont été incluses
- **Langue de publication** : Anglais

La recherche bibliographique initiale a été menée au cours des mois de Novembre et Février de l'année 2022. Des articles ont pu être collectés en se référant aux bases de données : Medline, Google Scholar et PubMed, en utilisant les **mots clés** suivants :

- Enterobacteria *Algeria * Bacterial resistance
- ESBL * Algerian * Antibiotic resistance
- Extended-Spectrum beta (β)-Lactamases Or ESBL
- E.coli * Algeria * Microbial resistance
- Antibiotic resistance * North Africa * Algeria
- Nosocomial Or Community infection

3.3. Analyse de données

Sur 223 sources de données, seulement 107 répondent à nos critères d'inclusion (**Figure12**). Ce tri présente les possibilités de classification pour chaque critère par ordre de préférence, de la plus élevée à la plus faible. Un tableau synthétique a été élaboré sur Excel après avoir fait une lecture analytique. Ce tableau concerne des dimensions telles que : le germe isolé, types et méthodes d'analyse, profils de résistance (antibiotiques + classe), l'Année de l'étude, Source, Support génétique, ainsi que la Région.

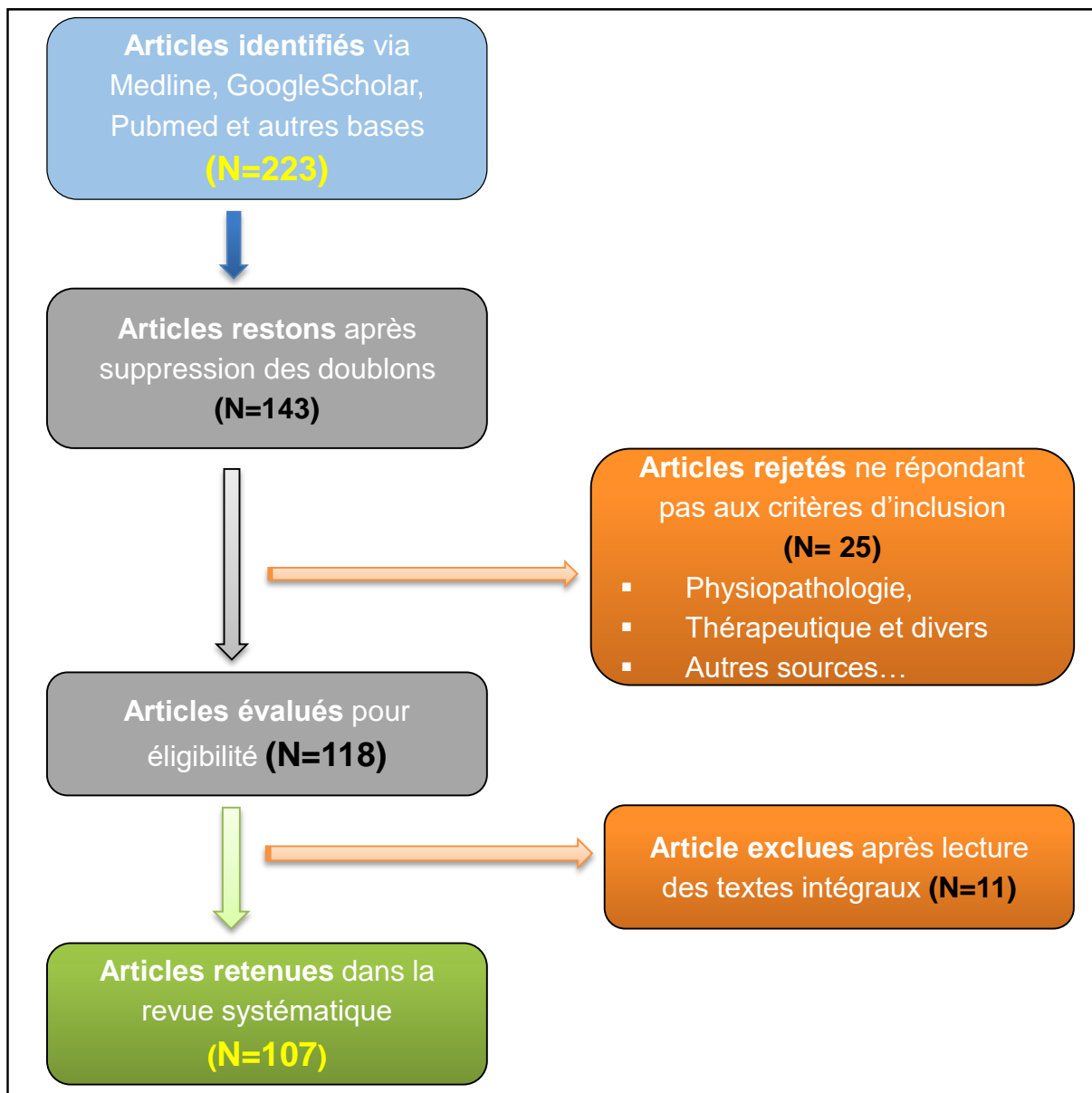


Figure 12. Diagramme de flux de la sélection des publications et données systématiques de la littérature sur l'étude de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques en Algérie

Discussion

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique. D'après les études publiées au niveau national, une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques a été observée en particulier chez les entérobactéries ces dix dernières années, et elle est fortement corrélée à plusieurs facteurs.

L'analyse descriptive des données recueillies par le questionnaire en termes de connaissances et de comportement vis-à-vis des antibiotiques et de l'antibiorésistance a révélé : une prédominance féminine des étudiants enquêtés avec un pourcentage de 90,34% par rapport au sexe opposé. La majorité des étudiants déclarent avoir pris d'antibiotiques, ceci est expliqué par le fait qu'ils ont été exposés au moins une fois à une infection qui demande un traitement à base d'Amoxicilline. Un faible taux d'étudiants a déclaré le non-respect de la dose et la durée de traitement, ce fait est expliqué le plus fréquemment dans le sens d'une diminution lorsque les symptômes disparaissent, ou des effets indésirables gênants, soit par changement de la dose en modifiant le nombre de prise par jours. La durée ou l'arrêt précoce du traitement, la prise d'antibiotique à une concentration sub-inhibitrice provoque un stress qui augmente la pression de sélection et augmente la résistance bactérienne (**Veysié, 2012**). Les résultats ont montré que près de 67% d'étudiants auraient recours à une médication sans avis de médecins. Ces mêmes résultats sont cohérents avec ceux rapportés dans une étude réalisée dans la commune de Biskra (**Nadji, 2019**), et sont légèrement inférieurs à l'enquête entreprise à la wilaya de Jijel (**Abdellouche et al. 2020**). Les étudiants s'automédiquent soit rarement, ce qui peut être discuté par la gravité des symptômes et de la prise directe d'antibiotique, le manque de temps nécessaire pour consulter un médecin, et le fait d'économiser le coût de consultation. Par contre, une remédiation qui permet de soigner les symptômes d'une maladie ou d'une crise qui déjà été diagnostiquée par le médecin (**Fardeheb, 2015**), peut être une cause de recours à une automédication une fois par mois.

L'antibiogramme est l'un des examens de diagnostic qui permet de prédire la sensibilité d'une bactérie présente dans un prélèvement. Plus de 50% de la population questionnée a déclaré ne pas l'avoir fait. L'ensemble des tests de diagnostic a pour but de surveiller l'épidémiologie des résistances. Le fait de distinguer les infections virales des infections bactériennes permettrait en effet à lui seul de réduire la consommation d'antibiotique (**Manguin, 2016**). La plupart des étudiants savent que les antibiotiques peuvent être utilisés en cas d'infection d'origine bactérienne, mais pas en cas d'une maladie virale. Pour l'infection d'origine fongique, les réponses étaient très proches.

Un grand nombre des personnes interrogées voit que les antibiotiques peuvent agir sur tous les types d'infections, accélèrent la guérison et qu'une mauvaise utilisation d'antibiotique

peut le rendre inefficace. Selon un rapport scientifique en 2022, plus on prend d'antibiotiques, plus le risque s'accroît de faire émerger des bactéries résistantes qui rendent les traitements antibiotiques ultérieurs moins efficaces pour le patient et pour la collectivité (**MSPF, 2022**).

D'un point de vue général les étudiants ont conscience de problème de la résistance bactérienne aux antibiotiques (89%). Il en est de même pour l'étude réalisée par **Nadji, (2019)** où 70,59% de la population ont déclaré positivement sur l'inutilité d'utiliser les ATBs à titre préventif en période d'épidémie, favorisant ainsi l'apparition des bactéries résistantes. Dans ce sens, des autorités sanitaires européennes rappellent que « l'utilisation massive et répétée d'antibiotiques génère au fil du temps une augmentation des résistances bactériennes. En effet, les antibiotiques agissent non seulement sur leur cible spécifique, la bactérie responsable de l'infection à traiter, mais également, pour la majorité d'entre eux, sur d'autres cibles telles que les bactéries commensales du tube digestif qui sont des bactéries utiles et non pathogènes. » (**Institut Pasteur, 2022**).

La totalité des étudiants ont déclaré l'utilisation d'au moins une alternative à l'antibiothérapie, les effets secondaires peuvent être une raison orientant cette population vers une phytothérapie en première position. La phytothérapie est actuellement classée parmi les médecines dites alternatives (**Niel, 2016**). En 2^{ème} position vient l'aromathérapie ; « Il serait temps que la médecine moderne prenne conscience qu'il existe un complément et une alternative à une antibiothérapie » déclare **Verbeke, (2006)**. Ce traitement est à base d'huiles essentielles qui sont reconnues par leurs propriétés anti-infectieuses, antibactériennes et antivirales.

De nombreuses études révèlent l'impact d'une surconsommation et le mésusage des antibiotiques sur l'augmentation des résistances bactériennes. Un total de 262360 unités d'antibiotique livrées durant l'année 2021 a été recensé ; cette période d'étude a été marquée par l'émergence de pneumonie liée au Coronavirus, une épidémie où les antibiotiques à large spectre ont été beaucoup utilisés. Les résultats montrent une consommation très élevée d'une céphalosporine de 1^{ère} génération, le Céfazoline. Il apparaît comme l'alternative la plus acceptable dans la majorité des cas et son utilisation est plus fréquente en antibiothérapie curative et à l'occasion de l'antibioprophylaxie chirurgicale (**Infectiologie, 2016**), ce qui témoigne une utilisation courante de ce médicament. L'analyse de données recueillies auprès des pharmacies de ville a révélé, que l'amoxicilline est l'antibiotique le plus vendu avec une fréquence de 32,95%; Ces résultats étaient cohérents avec les données rapportées par **Aggabi et al. (2015)** au niveau de la ville de Batna et Mascara avec un taux de (42.9%). Sur le plan qualitatif, la consommation d'antibiotiques s'est toujours caractérisée par une forte

prédominance des β -lactamines. Ceci, est probablement lié à l'incidence croissante des infections à entérobactérie produisant des bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE). Parmi cette classe d'antibiotique, c'est l'amoxicilline seule ou associée à l'acide clavulanique (Augmentin), qui représente 43.52% de la consommation. Une étude récente a assuré la prescription de l'amoxicilline, et l'amoxicilline clavulanate lors de l'infection à la COVID19 (**Diamantis et al. 2020**) ce qui prouve une large consommation d'amoxicilline durant cette pandémie. L'association amoxicilline-acide clavulanique est un antibiotique particulièrement générateur d'antibiorésistance figurant sur la liste des antibiotiques « critiques » définie par l'ANSM.

Le site d'introduction de ces antibiotiques dans l'organisme est multiple. Les antibiotiques administrés par voie orale sont les plus vendus par les pharmacies de ville, car c'est la plus pratique et, habituellement, la plus sûre et la moins coûteuse par rapport aux hôpitaux, où tous les antibiotiques sont administrables par voies injectable. Cette voie paraît utile pour les personnes hospitalisées, inconscientes ou incapables d'avaler, donc l'administration d'urgence est possible et facilitée.

Durant une période d'onze ans (2010-2021), les données scientifiques publiées analysant la situation alarmante de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques au niveau national ont été collectées. Cette période a connu une fluctuation dans le nombre de publications. L'augmentation de nombre des études publiées a commencé en 2014 et a duré six ans. Les deux dernières années sont caractérisées par une diminution progressive des données. Cette baisse peut être due à la propagation de la pandémie de la COVID19 qui est devenue un axe de recherche prioritaire. Ces études ont été réalisées pour la plupart au niveau des wilayas situées au Nord et au Centre du pays, cela est dû à la répartition des centres hospitaliers (CHU) et de recherches universitaires spécialisés.

Les membres des entérobactéries sont responsables d'un large éventail d'infections. Elles sont la première cause d'infections nosocomiales, étant responsables des septicémies, des infections urinaires, et entériques (**Aouf et al, 2018**). Dans notre analyse, le genre *Escherichia* a été classé en premier rang représenté par l'espèce *Escherichia coli* comme l'espèce la plus dominante, suivi de genre *Klebsiella* où l'espèce la plus isolée a été *Klebsiella pneumoniae*. Ces espèces ont été isolées de plusieurs prélèvements, majoritairement des urines qui sont les plus fréquentes. Dans des échantillons d'urine, dans une étude réalisée par **Nabti et al.** Les *Enterobacteriaceae* étaient la famille la plus commune, représentée par *E. coli*, *K. pneumoniae*. À Boumerdes, **Alouache et al.** ont détecté la présence de *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* dans des échantillons prélevés d'eau brute et d'eau traitée. Des

résultats similaires ont été rapportés dans plusieurs études, dans des stations d'épurations en Tunisie (**Hassen et al, 2020**), sur des échantillons cliniques (**Robert et al. 2014**). En outre, l'espèce *Enterobacter cloacae*, une espèce majoritairement présente dans les prélèvements environnementaux. Ces espèces se trouvent fréquemment dans les milieux naturels tels que l'eau, les eaux usées, les légumes et le sol. Ces bactéries sont des agents pathogènes très communs et sont fréquemment isolées dans hôpitaux. (**Boutarfi et al. 2019**). À l'ouest du pays des souches d'*Enterobacter cloacae*, ont été signalées, isolées chez des patients et leur environnement hospitalier (**Souna et al. 2014**).

Pour la résistance, incluant mais sans s'y limiter, les antibiotiques Gentamicine, Céfotaxime, Ciprofloxacine, Triméthoprim/sulfaméthoxazole et l'Amoxicilline/AC clavulanique, Ceftazidime et Amoxicilline sont les plus signalés dans les publications. Une résistance à ces antibiotiques a été observée dans 150 souches d'*E. coli* isolées à partir de l'urine de patients ambulatoires à Alger (**Yahiaoui, 2015**) et a également été observée dans des isolats d'*E.coli* uropathogènes en Iran (**Farzi et al.2021**). Dans notre analyse, la résistance extra-chromosomique est la plus observée. La plupart des gènes identifiés ont pour support génétique les plasmides. L'épidémiologie des résistances au sein des entérobactéries isolées a présenté la dissémination massive des enzymes de type CTX-M, TEM et SHV. Le gène le plus détecté est le CTX-M-15, un variant de *CTX-M*.

En Algérie, la première enzyme *CTX-M* a été signalée en 2005 dans des isolats cliniques à Constantine (**Ayad, 2016**). Le variant *CTX-M-15* a été signalé sur des isolats d'*E. coli*, de *K. pneumoniae* et d'*E. cloacae* provenant à partir d'échantillons prélevés chez des patients et de surfaces de l'unité de soins intensifs de l'hôpital de Tlemcen (**Baba Ahmed et al.2012**). Il a également été détecté sur des isolats de *K. pneumoniae* récupérés à partir d'échantillons d'urine chez un patient hospitalisé à l'hôpital universitaire d'Annaba (**Abderrahim et al. 2017**), des échantillons cliniques à l'hôpital de Laghouat (**Lagha et al. 2014**). Plus largement au Méditerrané, le *blaCTX-M-15* a également été signalé dans une étude en France en 2013 sur isolats d'*E. coli* provenant d'animaux de compagnie (**Dahmen et al. 2013**). L'Algérie figure désormais parmi les pays méditerranéens connus pour être touchés par la propagation du type CTX-M-15. Ce type de gène est couramment trouvé sur des plasmides transférables qui portaient en outre d'autres gènes de résistance aux antibiotiques (**Loucif et al. 2016 ; Baba Ahmed et al. 2013**). De plus, le gène codant pour l'OXA-48 où le premier isolement de *K. pneumoniae* producteur de ce gène en Algérie était déclaré à partir des souches isolées dans le service pédiatrique de l'Hôpital central de l'armée à Alger (**Aggoune et al. 2014**). Des

Discussion

entérobactéries productrices d'*OXA-48* chez des animaux sauvages d'Algérie et d'Afrique étaient signalées pour la première fois par Bachiri et al sur des souches d'*E. coli* isolées de deux sangliers dans une forêt à Bejaia (**Bachiri et al.2017**). Dans ce contexte, une étude a décrit la présence de *blaOXA-48* hébergé par des souches de *K. pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* isolées de patients hospitalisés dans un CHU au Maroc (**Girlich et al.2014**). Selon les résultats de l'analyse, le gène *blaTEM-1* vient en 3ème position. Il a été identifié dans des isolats d'*E.coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae* dans un service de réanimation et bloc opératoire de l'hôpital de Tlemcen (**Baba Ahmed, 2012**). Des isolats de *Serratia marcescens* porteur de *blaTEM-1* ont été collectés dans des hôpitaux et des laboratoires privés à Constantine et à Skikda (**Batah et al.2015**). En Jordanie, une étude a révélé la présence de gène *blaTEM-1* dans des échantillons de bactéries *Escherichia coli* isolés à partir de différentes sources cliniques (**Delmani et al.2017**). Selon **Lozniewski et al. (2010)** de nombreux plasmides de résistance sont conjugatifs ou mobilisables ce qui permet un transfert horizontal ; ces transferts sont à l'origine d'une dissémination très importante de ces gènes au sein des populations bactériennes ce qui fait qualifier la résistance plasmidique de "contagieuse ou d'infectieuse".

Conclusion et perspectives

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, les entérobactéries ont atteint des niveaux alarmants de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques et de nouveaux mécanismes de résistance émergente se propagent à l'échelle mondiale, ce qui menace notre capacité à traiter les maladies infectieuses courantes

En premier lieu, nous avons mis en lumière le phénomène de la résistance bactérienne qui s'est avéré être connu par la plupart des étudiants. En caractérisant les facteurs qui favorisent cette résistance, un grand nombre d'étudiant considère que la consommation des antibiotiques ne contribue pas à l'apparition des bactéries résistantes. Dans le même contexte, la majorité consomme des antibiotiques avec un taux élevé d'automédication. En outre, une autre habitude de la population enquêtée s'est révélée aussi par cette étude ; bien que la majeure partie respecte la dose et la durée, nous avons observé un non-respect chez certains. Plus de la moitié de la population déclarent ne pas réaliser des tests de diagnostic avec leur médecin afin de savoir l'origine de l'infection. En deuxième lieu, nous avons mis en évidence que les antibiotiques les plus consommés au niveau de la ville de Tébessa durant la dernière année appartenant aux β -lactamines, où l'Amoxicilline arrive en tête suivi de l'Amoxicilline – Acide clavulanique (et la Céfazoline (CIG) en 3eme position. Finalement, l'analyse systématique nous a permis d'évaluer la prévalence de résistance des entérobactéries et de repérer les causes et les sources possibles de contamination au niveau national. Ces études sur la résistance des entérobactéries ont révélé une multitude de résultats, à savoir :

- La répartition des recherches est géo-spécifique concentrée au Nord du pays par rapport au Sud et les zones d'ombre,
- Le milieu hospitalier est considéré comme la principale source des résistances signalées,
- *Escherichia coli* a été l'espèce la plus dominante et incriminée en termes de résistance,
- Une prévalence croissante des BLSE en milieu communautaire,
- La majorité des gènes de résistances signalées a pour support les plasmides,
- Les CTX-M constituent désormais la majorité des BLSE détectées,
- Une dissémination massive des enzymes de type CTX-M, TEM et SHV,
- Les résistances ont été signalées vis-à-vis de nombreux antibiotiques notamment la classe des B-Lactamines à titre d'exemple : l'Amoxicilline, l'association Amoxicilline et acide clavulanique, la Gentamycine...

Généralement, la surconsommation des antibiotiques, l'automédication et le non respect des doses et des durées du traitement restent les facteurs majeurs favorisant la résistance aux ATBs.

À la lumière des résultats obtenus, certaines recommandations peuvent être envisagées

- Réaliser des recherches évaluant d'autres facteurs qui peuvent augmenter l'apparition des résistances bactériennes,
- Lancer des sensibilisations ou des campagnes d'information sur le danger et l'impact de cette résistance,
- Réaliser des études épidémiologiques dans les autres wilayas algériennes permettant d'avoir une vision nationale sur la prévalence de consommation des antibiotiques dans la population,
- Améliorer et développer des études et des recherches sur la résistance des entérobactéries au Sud algérien et les autres régions à l'ombre.
- Mettre en place un plan d'action national afin de ralentir et freiner ce phénomène,
- Amélioration de la surveillance de l'infection causée par la résistance aux antibiotiques,
- Renforcer les politiques et les programmes et mettre en œuvre des mesures de prévention et de contrôle des infections

Références bibliographiques

- **Abdellouche, N., Aklouche, R., Kenioua, A., & Zouaghi, M. F. E. (2020).** *Enquete épidémiologique sur l'automédication dans la Wilaya de Jijel* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- **Abderrahim, A., Djahmi, N., Pujol, C., Nedjai, S., Bentakouk, M. C., Kirane-Gacemi, D., ... & Pantel, A. (2017).** First case of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Annaba University hospital, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 23(7), 895-900.
- **Adebo, N. A. I. (2019).** Analyse de la prescription des antibiotiques dans le service de Médecine Interne du Centre Hospitalier et Universitaire du Point G (Doctoral dissertation, USTTB).
- **Adeolu, M., Alnajjar, S., Naushad, S., & Gupta, R. S. (2016).** Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. Nov. Divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. Nov., Pectobacteriaceae fam. Nov., Yersiniaceae fam. Nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(12), 5575-5599.
- **Agabou, A., Pantel, A., Ouchenane, Z., Lezzar, N., Khemissi, S., Satta, D., ... & Lavigne, J. P. (2014).** First description of OXA-48-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone ST131 from patients hospitalised at a military hospital in Algeria. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 33(9), 1641-1646.
- **Aggoune, N., Tali-Maamar, H., Assaous, F., Benamrouche, N., Naim, M., & Rahal, K. (2014).** Emergence of plasmid mediated carbapenemase OXA-48 in a *Klebsiella pneumoniae* strain in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2(4), 327-329.
- **Ahmed, Z. B., Ayad, A., Mesli, E., Messai, Y., Bakour, R., & Drissi, M. (2012).** CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in the intensive care unit of Tlemcen Hospital, Algeria. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*, 18 (4), 382-386, 2012.
- **Alanis, A. J. (2005).** Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era?. *Archives of medical research*, 36(6), 697-705.
- **Alnaji, H. (2018).** *Molecular Biology*. Visité le mercredi (23 / 03 / 2022). 18 :00h disponible sur le lien : <https://www.researchgate.net/publication/328342721>
- **Alouache, S. (2012).** *Prévalence et caractérisation de la résistance aux agents antimicrobiens chez les bacilles à Gram négatif isolés de l'environnement* (Doctoral dissertation).
- **Alouache, S., Estepa, V., Messai, Y., Ruiz, E., Torres, C., & Bakour, R. (2014).** Characterization of ESBLs and associated quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from an urban wastewater treatment plant in Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 20(1), 30-38.
- **Amady, S. Y., Oumar, D. I. O. P., MBODJI, M., FAYE, M., FAYE, F. A., NDIAYE, F. & FAYE, N. (2021).** Profil de résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries uropathogènes isolées dans le laboratoire de biologie médicale du Centre Hospitalier Régional de Thiès. *Revue Africaine de Médecine Interne*, 8(1), 39-47.
- **Amina, A., Hocine, G., Hafid, B., Boualem, T., Abderrahmane, B., Amal, G., ... & Amel, A. (2015).** L'automédication par les antibiotiques: étude auprès de cinq officines pharmaceutiques de cinq villes algériennes. *Batna Journal of Medical Sciences*, 2(1), 30-35.
- **Anastay, M., Lagier, E., Blanc, V., & Chardon, H. (2013).** Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries dans un hôpital du sud de la France, 1999–2007. *Pathologie Biologie*, 61(2), 38-43.
- **ANIAMBOSSOU, V. A. S. (2016).** Nécessité d'utiliser les tests biochimiques pour identifier les entérobactéries. EPAC/UAC.
- **Anjum, M. F., Zankari, E., & Hasman, H. (2017).** Molecular methods for detection of

Références bibliographiques

antimicrobial resistance. *Microbiology spectrum*, 5(6), 5-6.

- ANSM , 2013 .(Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) , (2013) .Visité Le lundi 23/5/2022 à 18 :44h .Disponible sur : <https://archiveansm.integra.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Les-antibiotiques-consideres-comme-critiques-premieres-reflexions-sur-leur-caracterisation-Point-d-information>
- Avril J.L., Dabernat H., Denis F. & Monteil H., (2000). Bacteriologie clinique, Ellipses 2^{ieme} Edition, Paris, France.
- Ayad, A., Drissi, M., de Curraize, C., Dupont, C., Hartmann, A., Solanas, S., ... & Neuwirth, C. (2016). Occurrence of ArmA and RmtB aminoglycoside resistance 16S rRNA methylases in extended-spectrum β -lactamases producing Escherichia coli in Algerian hospitals. *Frontiers in microbiology*, 7, 1409.
- Bachiri, T., Bakour, S., Lalaoui, R., Belkebla, N., Allouache, M., Rolain, J. M., & Touati, A. (2018). Occurrence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolates in the wildlife: first report of OXA-48 in wild boars in Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 24(3), 337-345.
- Batah, R., Loucif, L., Olaitan, A. O., Boutefnouchet, N., Allag, H., & Rolain, J. M. (2015). Outbreak of Serratia marcescens coproducing ArmA and CTX-M-15mediated high levels of resistance to aminoglycoside and extended-spectrum beta- lactamases, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 21(4), 470-476.
- Bathokédou, A., Yaotse, D. A., Essobozou, P., & Eyawelhon, K. (2014). Profil bactériologique des sinusites maxillaires chroniques suppurées d'origine nasale de l'adulte au CHU Tokoin de Lomé. *Pan African Medical Journal*, 16(1).
- Belbel, Z., Chettibi, H., Dekhil, M., Ladjama, A., Nedjai, S., & Rolain, J. M. (2014). Outbreak of an armA methyltransferase-producing ST39 Klebsiella pneumoniae clone in a pediatric Algerian Hospital. *Microbial Drug Resistance*, 20(4), 310-315.
- BEN MOUSSA, A. (2016). Profil de sensibilité des entérobactéries aux fluoroquinolones au CHU de Rabat (Doctoral dissertation).
- Bergogne-Bérézin, E. (2006). Antibiothérapie des infections urinaires basses: bases cliniques, microbiologiques et pharmacologiques. *Antibiotiques*, 8(1), 51-62.
- Berthélémy, S., & Buxeraud, J. (2010). La vaccination, une démarche de santé publique. *Actualités Pharmaceutiques*, 49(498), 14-19.
- Billy, C. (2003). Détection génotypique des résistances bactériennes: de la phénotypie à la génotypie, deux méthodes complémentaires. *Réanimation*, 12(3), 192-197.
- Biomérieux SA, API20E : Système d'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, 2010, France
- Bouamri, E., & Chrif, M. (2016). étude épidémie-moléculaire des entérobactéries productrices de β -lactamases a spectre élargi au chu de Marrakech.
- BOUAZIZ, A. (2019). *Etude phénotypique et moléculaire de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des fientes de la cigogne blanche (Ciconia ciconia) de la commune d'El Madher wilaya de Batna* (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
- Bourama Konate, M. (2020). (Rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques).
- Bourdon, N. (2011). Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques chez les entérocoques en France. *Journal des Anti-infectieux*, 13(1), 2-11.
- Boutal, H. (2017). *Développement et validation de tests de détection rapide de la résistance aux antibiotiques* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
- Boutarfi, Z., Rebiahi, S. A., Morghad, T., Pulido, R. P., Burgos, M. J. G., Mahdi, F., ... &

- Galvez, A. (2019).** Biocide tolerance and antibiotic resistance of *Enterobacter* spp. isolated from an Algerian hospital environment. *Journal of global antimicrobial resistance*, 18, 291-297.
- **Brahmi, S., Dunyach-Rémy, C., Touati, A., & Lavigne, J. P. (2015).** CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(3), e18-e20.
 - **Brenner, D. J., & Farmer III, J. J. (2015).** Enterobacteriaceae. *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*, 1-24.
 - **Bush, K. (2004).** Antibacterial drug discovery in the 21st century. *Clinical Microbiology and Infection*, 10, 10-17.
 - **Bush, K., Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. (1995).** A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39(6), 1211-1233.
 - **Buxeraud, J., & Faure, S. (2016).** Les macrolides et les cyclines. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(558), 7-12.
 - **Carattoli, A. (2001).** Importance of integrons in the diffusion of resistance. *Veterinary research*, 32(3-4), 243-259.
 - **Carrër, A. (2010).** *Résistances émergentes aux carbapénèmes chez les entérobactéries* (Doctoral dissertation, Paris 11).
 - **Cattoir, V., & Bicêtre, F. (2008).** Les nouvelles bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). *Pathologie infectieuse en réanimation*, 204-209.
 - **Cattoir, V., Poirel, L., & Nordmann, P. (2008).** Plasmid-mediated quinolone resistance pump QepA2 in an *Escherichia coli* isolate from France. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(10), 3801-3804.
 - **Chinedum, I. E. (2005).** Microbial resistance to antibiotics. *African journal of Biotechnology*, 4(13).
 - **Costa, C. F. M., Monteiro Neto, V., Santos, B. R. D. C., Costa, B. R. R., Azevedo, A., Serra, J. L., ... & Kuppinger, O. (2014).** Enterobacteria identification and detection of diarrheagenic *Escherichia coli* in a Port Complex. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45, 945-952
 - **Courvalin, P. (2008).** La résistance des bactéries aux antibiotiques: combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 161(1), 7-12.
 - **D'Costa, V. M., King, C. E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W. W., Schwarz, C., & Wright, G. D. (2011).** Antibiotic resistance is ancient. *Nature*, 477(7365), 457-461.
 - **Dahmen, S., Haenni, M., Châtre, P., & Madec, J. Y. (2013).** Characterization of bla CTX-M IncFII plasmids and clones of *Escherichia coli* from pets in France. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(12), 2797-2801.
 - **Dang, H., Ren, J., Song, L., Sun, S., & An, L. (2008).** Diverse tetracycline resistant bacteria and resistance genes from coastal waters of Jiaozhou Bay. *Microbial ecology*, 55(2), 237-246.
 - **Delgado-Valverde, M., Sojo-Dorado, J., Pascual, Á., & Rodríguez-Baño, J. (2013).** Clinical management of infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Therapeutic advances in infectious disease*, 1(2), 49-69.
 - **Delmani, F. A., Jaran, A. S., Tarazi, Y. A., Masaadeh, H., Zaki, O., & Irbid, T. (2017).** Characterization of ampicillin resistant gene (blaTEM-1) isolated from *E. coli* in Northern Jordan. *Asian J Biomed Pharm Sci*, 7, 11-5.
 - **Deng, Y., Zeng, Z., Tian, W., Yang, T., & Liu, J. H. (2013).** Prevalence and characteristics of rmtB and qepA in *Escherichia coli* isolated from diseased animals in China. *Frontiers in microbiology*, 4, 198.
 - **Denis, F., Cattoir, V., Ploy, M. C., & Mounier, M. (2007).** Infections oculaires. In *Bactériologie médicale, techniques usuelles* (2^{ème} édition). ELESIVE Masson

- **Diamantis, M., Rouyer, A., Straz Hassen, B., Abbassi, M. S., Benlabidi, S., Ruiz-Ripa, L., Mama, O. M., Ibrahim, C., ... & Torres, C. (2020).** Genetic characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from wastewater and river water in Tunisia: predominance of CTX-M-15 and high genetic diversity. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(35), 44368-44377.
- **Diamantis, S., Rouyer, M., Strazulla, A., Monnet, F., & Lekens, B. (2020).** Analyse des prescriptions d'antibiotiques des médecins généralistes en France durant la pandémie de COVID-19, à partir d'un logiciel de prescription. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 50(6), S94.
- **Doi, Y., & Arakawa, Y. (2007).** 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clinical Infectious Diseases*, 45(1), 88-94.
- **Domínguez, D. C., & Meza-Rodriguez, S. M. (2019).** Development of antimicrobial resistance: Future challenges. In *Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology* (pp. 383-408). Butterworth-Heinemann.
- **Douhan, H. (2021).** Les infections à entérobactéries, épidémiologie et diagnostic bactériologique (Doctoral dissertation).
- **Drancourt, M. (1998).** Outils moléculaires d'identification en bactériologie. *Médecine et maladies infectieuses*, 28(4), 380-382.
- **Durand GA, Raoult D, Dubourg G. 2019.** Antibiotic discovery: history, methods and perspectives. *Int J Antimicrob Agents* 53:371-382.
- **Durante-Mangoni, E., Grammatikos, A., Utili, R., & Falagas, M. E. (2009).** Do we still need the aminoglycosides? *International journal of antimicrobial agents*, 33(3), 201-205.
- **Duval, M., & Cossart, P. (2019).** Un nouveau mécanisme de résistance aux antibiotiques-Le recyclage des ribosomes. *médecine/sciences*, 35(8-9), 613-615.
- **Ebongue, C. O., Tsiazok, M. D., Mefo'o, J. P. N., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adiogo, D. (2015).** Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *The Pan African Medical Journal*, 20.
- **Eddair, Y. (2021).** La résistance aux Beta-Lactamines par production de beta-Lactamases à spectre élargi chez les entérobactéries : Caractérisation phénotypique et génotypique.
- **Ee, R., Madhaiyan, M., Ji, L., Lim, Y. L., Nor, N. M., Tee, K. K., Chen, J. W. & Yin, W. F. (2016).** *Chania multitudinisentens* gen. nov., sp. nov., an Nacyl- homoserine-lactone-producing bacterium in the family Enterobacteriaceae isolated from landfill site soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 66, 2297–2304.
- **Egli, A., Greub, G., Suter-Riniker, F., & Schrenzel, J. (2018, November).** Méthodes pour la détermination des résistances aux antibiotiques. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 18, No. 46, pp. 950-956). EMH Media.
- **El Anbassi, S., Bianchi, V., & Duployez, C. (2019).** Bactériologie virologie. De Boeck Supérieur. 2^{ème} Edition, Paris, France.
- **Eljadi, H. (2012).** *Beta-Lactamases a spectre étendu: phénotype invincible de résistance* (Doctoral dissertation).
- **Ephytia (2022) princioe galeria API. Visité le jeudi (24 / 03 / 2022). 21 :51 h Disponible sur le lien : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/23587/Veg-Di-g-Galleries-API>**
- **Etebu, E., & Ukpong, M. (2016).** Bacterial resistance to antibiotics: Update on molecular perspectives. *Microbiol Res Int*, 4(4), 40-49.
- **EWING, W. H., FARMER III, J. J., & BRENNER, D. J. (1980).** Proposal of Enterobacteriaceae

Références bibliographiques

fam. nov. nom. rev. to replace Enterobacteriaceae Rahn 1937, nom. fam. cons. (Opin. 15, Jud. Comm. 1958), which lost standing in nomenclature on 1 January 1980. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 30(4), 674-675.

- **Falagas, M. E., Athanasiou, F., Voulgaris, G. L., Triarides, N. A., & Vardakas, K. Z. (2019).** Resistance to fosfomycin: mechanisms, frequency and clinical consequences. *International journal of antimicrobial agents*, 53(1), 22-28.
- **Fardeheb, Y. (2015).** Evaluation du phénomène d'automédication dans la Wilaya de Tlemcen (Doctoral dissertation, Thèse pour l'obtention de titre docteur en pharmacie. Faculté de médecine. Université de Tlemcen 2015, 117p. Disponible à URL: <http://dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/8353>. Consulté le: 05-02-2018).
- **Farzi, S., Ranjbar, R., Niakan, M., & Ahmadi, M. H. (2021).** Molecular Characterization of Antibiotic Resistance Associated with *TEM* and *CTX-MESBL* in Uropathogenic *E. coli* Strains Isolated from Outpatients. *Iranian journal of pathology*, 16(4), 386–391. <https://doi.org/10.30699/IJP.20201.521669.2556>
- **Fatnassi, A. (2020).** L'étude de la résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries isolées de différents prélèvements pathologiques à l'hôpital El-Hakim Saâdan-Biskra.
- **Fechner, L., Dreanno, C., Meylheuc, T., Naïtali, M., & Briandet, R. (2012).** Biofilms, quand les microbes s'organisent. *Biofilms, quand les microbes s'organisent*, 1-180.
- **Fosseprez, P. (2013).** *Antibiothérapie en pratique de ville: constat et réflexions sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'antibiorésistance* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- **Foulal, L. (2013).** *Profil épidémiologique des entérobactéries sécrétrices de β -lactamases à spectre élargi diagnostiquées au sein du laboratoire de microbiologie du CHU de Rabat* (Doctoral dissertation).
- **Fritsche T.R., Castanheira M., Miller G.H., Jones R.N. & Armstrong E.S., 2008.** Detection of methyltransferases conferring high-level resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae from Europe, North America, and Latin America. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52: 1843-1845.
- **Galimand M., Courvalin P. & Lambert T., 2003.** Plasmid-mediated high-level resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae due to 16S rRNA methylation. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 47: 2565-2571.
- **Garnier, F. Burucoa, C. Lanotte, P. (2011).** (Chapitre 04 -Biologie moléculaire : application à la détection, à l'identification et au génotypage) .In . (Bactériologie médicale Techniques usuelles). Elsevier Masson SAS.
- **Girlich, D., Bouihat, N., Poirel, L., Benouda, A., & Nordmann, P. (2014).** High rate of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase and OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae at a university hospital in Morocco. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(4), 350-354.
- **Gong, J., Zhuang, L., Zhang, D., Zhang, P., Dou, X., & Wang, C. (2018).** Establishment of a Multiplex Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Detection of Sulfonamide Resistance Genes (*sul1*, *sul2*, *sul3*) in Clinical Enterobacteriaceae Isolates from Poultry. *Foodborne Pathogens and Disease*, 15(7), 413-419.
- **Goro, A. A. (2021).** *Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020* (Doctoral dissertation, USTTB).
- **Guillard T., Cavallo J.D., Cambau E., Duval V., Bajolet O., Brasme L., De Champs C. & Vernet-Garnier V., 2009.** Mise au point d'une technique de PCR en temps réel pour la détection rapide des gènes *qnr* chez des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu. *Pathologie Biologie*, 58 : 430-433.

Références bibliographiques

- **Habibou, S. (2019).** (Prévalence des entérobactéries productrices de bêtalactamase à spectre élargi et/ou résistantes à l'imipénème au laboratoire de bactériologie-virologie du CHNU/FANN de 2015 à 2016).
- **HANBAZ, S. (2021).** *LES NOUVELLES METHODES DE DETECTION DE LA RESISTANCE BACTERIENNE* (Doctoral dissertation).
- **Hassen, B., Abbassi, M. S., Benlabidi, S., Ruiz-Ripa, L., Mama, O. M., Ibrahim, C., ... & Torres, C. (2020).** Genetic characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from wastewater and river water in Tunisia: predominance of CTX-M-15 and high genetic diversity. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(35), 44368-44377.
- **HAYETTE, M. P., HUYNEN, P., & MEEEX, C. (2010).** Travaux pratiques de microbiologie générale.
- **Hidalgo L., Hopkins K.L., Gutierrez B., Ovejero C.M., Shukla S., Douthwaite S., Prasad K.N., Woodford N. & Gonzalez-Zorn B., 2013.** Association of the novel aminoglycoside resistance determinant RmtF with NDM carbapenemase in Enterobacteriaceae isolated in India and the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68 : 1543-1550.
- **Honoré S., Lascols C., Malin D., Targaouchi R., Cattoir V., Legrand P., Soussy C.J. & Cambau E., 2006.** Émergence et diffusion chez les entérobactéries du nouveau mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones Qnr (résultats hôpital Henri- Mondor 2002–2005). *Pathologie Biologie*; 54 : 270-279.
- **Infectiologie (2016).** Propositions d'alternatives à l'oxacilline ou la cloxacilline par voie IV chez l'adulte et l'enfant en contexte de rupture de stock. <https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/spilf/recos/2016-alternatives-penicillines-m-injectables.pdf>
- **Jacoby G.A. & Munoz-Price L.S., 2005.** The new β -lactamases. *New England Journal of Medicine*, 352 : 380-391.
- **Jacoby, G. A. (2009).** AmpC β -lactamases. *Clinical microbiology reviews*, 22(1), 161-182.
- **James, C. E., & Winterhalter, M. (2008).** The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 6(12), 893-903.
- **Janda JM, Abbott SL. 2006.** The enterobacteria, 2nd ed. ASM Press, Washington,
- **Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2021).** The Changing Face of the Family Enterobacteriaceae (Order: "Enterobacterales"): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes. *Clinical microbiology reviews*, 34(2), e00174-20.
- **Jeannot, K., Bolard, A., & Plesiat, P. (2017).** Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms. *International journal of antimicrobial agents*, 49(5), 526-535.
- **Jehl, F., Chabaud, A., & Grillon, A. (2015).** L'antibiogramme: diamètres ou CMI?. *Journal des Anti-infectieux*, 17(4), 125-139.
- **Joly, B., & Reynaud, A. (2004).** Entérobactéries: systématique et méthodes de diagnostic. *FEUILLETS DE BIOLOGIE*, 69-69.
- **Joly-Guillou, M. L. (2006).** Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie. *Réanimation*, 15(3), 237-240.
- **Kadidia, K. (2020).** *Analyse de la prescription et de la dispensation des antibiotiques à l'hôpital de Sikasso* (Doctoral dissertation, USTTB).
- **Kang H.Y., Kim K.Y., Kim J, Lee J.C., Lee Y.C., Cho D.T. & Seol S.Y., 2008.** Distribution of conjugative-plasmid-mediated 16S rRNA methylase genes among amikacin-resistant Enterobacteriaceae isolates collected in 1995 to 1998 and 2001 to 2006 at a university hospital in South Korea and identification of conjugative plasmids mediating dissemination of 16S rRNA methylase. *Journal of Clinical Microbiology*, 46 : 700-706.

Références bibliographiques

- **Kang, E., Crouse, A., Chevallier, L., Pontier, S. M., Alzahrani, A., Silué, N., ... & Malo, D. (2018).** Enterobacteria and host resistance to infection. *Mammalian genome*, 29(7), 558-576.
- **Kansaye, H. (2020).** *Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées de pus, d'hémoculture et de selles au CHU du point G* (Doctoral dissertation, USTTB).
- **Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004).** Pathogenic escherichia coli. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123-140.
- **Kaprou, G. D., Bergšpica, I., Alexa, E. A., Alvarez-Ordóñez, A., & Prieto, M. (2021).** Rapid methods for antimicrobial resistance diagnostics. *Antibiotics*, 10(2), 209.
- **Konaté, B. (2021).** *Rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques* (Doctoral dissertation, USTTB).
- **Koullikoff, (2017).** **Visité le Jeudi (22/12/2022), 12 :46 .Disponible sur :** <http://www.inserm.fr/inforlation-en-sante/dossiers-information/resistance-antibiotiques>
- **Lai, M. (2013).** *Réévaluation des connaissances et représentations des parents d'enfants atteints de viroses saisonnières vis-à-vis de la prescription d'antibiotiques* (Doctoral dissertation).
- **Lanotte, P., Mereghetti, L., Quentin, R. (2011).** (Chapitre 02 - Démarche de l'examen bactériologique.). In (Bactériologie médicale Techniques usuelles). Elsevier Masson SAS.
- **Lavigne, J. P. (2007).** Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. *MB7: Bactériologie B6–Antibiotiques et résistance. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.* p, 1-3.
- **Leclercq, R. (2002, May).** Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. In *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation* (Vol. 21, No. 5, pp. 375-383). Elsevier Masson.
- **Leclercq, R. (2006).** **Glycopeptides et staphylocoques.** *Antibiogramme. Courvalin P, Leclercq R, Bingen E, eds. Paris, 279-288.*
- **Legeay, C., Hilliquin, D., Brunet, M., & Zahar, J. R. (2016).** Les bêta-lactamases à spectre élargi, quel est le risque en oncopédiatrie?. *Revue d'Oncologie Hématologie Pédiatrique*, 4(1), 25-34.
- **Levy, S. B. (1998).** **The challenge of antibiotic resistance.** *Scientific American*, 278(3), 46-53.
- **Levy, S. B., & Marshall, B. (2004).** Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature medicine*, 10(12), S122-S129.
- **Liakopoulos, A., Mevius, D., & Ceccarelli, D. (2016).** A review of SHV extended-spectrum β -lactamases: neglected yet ubiquitous. *Frontiers in microbiology*, 7, 1374.
- **Lozniewski, A., & Rabaud, C. (2010).** Résistance aux antibiotiques. *CCLIN Sud-Est*.
- **Lozniewski, A., & Rabaud, C. (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux-Infections associées aux soins.CCLIN Sud-Est.
- **LPSN. (Family Enterobacteriaceae), 2022. Visité le Jeudi (24 / 03 / 2022), 21 :11 h. Disponible sur:** <https://lpsn.dsmz.de/family/enterobacteriaceae>.
- **Mandell, G. L. (2010).** Bennett's principles and practice of infectious diseases. *Mycobacterium tuberculosis*, 2, 2853-86.
- **Mangin, L. (2016).** Antibiotiques et résistances: enquête sur les connaissances et les comportements du grand public (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- **Marcadé, G. (2013).** Tests de diagnostic rapide en bactériologie. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 28(4), 167-173.
- **Marion, N. I. E. L. (2016).** Traitement de l'acné par la phytothérapie et l'aromathérapie.
- **MAZRI, R. (2015).** *Nouvelle approche des relations structures-activités dans des molécules antibiotiques* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra).
- **Medeiros, A. A. (1997).** Evolution and dissemination of β -lactamases accelerated by generations of β -lactam antibiotics. *Clinical Infectious Diseases*, 24(Supplement_1), S19-S45.

Références bibliographiques

- **Menard R., Molinas C., Arthur M., Duval J., Courvalin P. & Leclercq R., 1993.** Overproduction of 3'-aminoglycoside phosphotransferase type I confers resistance to tobramycin in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 37 : 78-83.
- **Meradi, L., Djahoudi, A., Abdi, A., Bouchakour, M., Claude, J. D. P. G., & Timinouni, M. (2011).** Résistance aux quinolones de types qnr, aac (6')-Ib-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie. *Pathologie biologique*, 59(4), e73-e78.
- **MERIEU, M. (2012).** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques: Cas des Entérobactéries e pseudomonas.
- **Mesaros, N., Van Bambeke, F., Glupczynski, Y., Vanhoof, R., & Tulkens, P. M. (2005).** L'efflux des antibiotiques: un mécanisme ubiquitaire conduisant à la résistance. Etat de la question et implications microbiologiques et cliniques. *Louvain médical*, 124(8), 308-320.
- **Michel-Briand, Y. (2007).** La résistance aux β -lactamines les plus récentes: les mécanismes d'apparition et de diffusion de la résistance chez les entérobactéries. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 191(1), 35-51
- **Microbiologiemedicale.fr, 2022.** Visité le Mercredi (23/3/2022), à 23 :51h. Disponible sur le lien : <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-trypticase-soja/>
- **Mingeot-Leclercq, M. P., Glupczynski, Y., & Tulkens, P. M. (1999).** Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 43(4), 727-737.
- **Morales-López, S., Yepes, J. A., Prada-Herrera, J. C., & Torres-Jiménez, A. (2019).** Enterobacteria in the 21st century: A review focused on taxonomic changes. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 13(04), 265-273.
- **Moussaoui, L. (2012).** Applications de la spectrométrie de masse type MALDI-TOF à la bactériologie et à la distinction de variants génétiques (Doctoral dissertation, université de Strasbourg).
- **MSPF, 2022. (Ministère de la santé et de la prévention français) , (2022).** Visité le jeudi (02/06/2022) , à 11 :25h .Disponible sur : <https://solidarites-sante.gouv.fr/prevention-en-sante/les-antibiotiques-des-medicaments-essentiels-a-preserver/des-antibiotiques-a-l-antibioresistance/article/l-antibioresistance-pourquoi-est-ce-si-grave?>
- **Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016).** Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology spectrum*, 4(2), 4-2.
- **Muylaert A. & Mainil J.G., 2013.** Résistances aux fluoroquinolones: la situation actuelle. *Annales De Medecine Veterinaire*, 157 : 15-26.
- **Muylaert, A., & Mainil, J. (2013).** Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur " contagiosité". In *Annales de Medecine vétérinaire* (Vol. 156, pp. 109-123). ULg-Université de Liège.
- **Naas, T., Oxacelay, C., & Nordmann, P. (2007).** Identification of CTX-M-type extended-spectrum- β -lactamase genes using real-time PCR and pyrosequencing. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(1), 223-230.
- **Nabti, L. Z., Sahli, F., Radji, N., Mezaghcha, W., Semara, L., Aberkane, S., ... & Godreuil, S. (2019).** High prevalence of multidrug-resistant *Escherichia coli* in urine samples from inpatients and outpatients at a tertiary care hospital in Setif, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 25(3), 386-393.
- **NADJI, A (2019).** Évaluation de la prévalence du phénomène de l'automédication et l'automédication par les antibiotiques au niveau d'une officine pharmaceutique dans la commune de BISKRA.
- **Nadon, C. A., Trees, E., Ng, L. K., Nielsen, E. M., Reimer, A., Maxwell, N., ... & Collective the MLVA Harmonization Working Group. (2013).** Development and application of MLVA methods

Références bibliographiques

as a tool for inter-laboratory surveillance. *Euro surveillance*, 18(35), 20565.

- **Naushad, H. S., Lee, B. & Gupta, R. S. (2014).** Conserved signature indels and signature proteins as novel tools for understanding microbial phylogeny and systematics: identification of molecular signatures that are specific for the phytopathogenic genera *Dickeya*, *Pectobacterium* and *Brenneria*. *Int J Syst Evol Microbiol* 64, 366–383.
- **Nguyen, M. C. P., Woerther, P. L., Bouvet, M., Andremont, A., Leclercq, R., & Canu, A. (2009).** *Escherichia coli* as reservoir for macrolide resistance genes. *Emerging infectious diseases*, 15(10), 1648.
- **Nikaido, H. (2003).** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(4), 593-656.
- **Nordmann, P. (2010).** Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. *médecine/sciences*, 26(11), 950-959.
- **Nordmann, P., & Carrer, A. (2010).** Les carbapénémases des entérobactéries. *Archives de pédiatrie*, 17, S154-S162.
- **Nordmann, P., Dortet, L., & Poirel, L. (2012).** Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm!. *Trends in molecular medicine*, 18(5), 263-272.
- **Nounsi, N. (2019).** *Pénurie en antibiotiques: Quelles alternatives?* (Doctoral dissertation).
- **Nys, G. (2021).** Revue bibliographique des antibiorésistances portées par les entérobactéries isolées de reptiles et évaluation du profil de résistance d'*Escherichia coli* isolées de reptiles en Belgique.
- **Oberlé, K. (2012).** *Devenir des antibiotiques et des populations d'Escherichia coli et d'Enterococcus spp. dans les hydrosytèmes de surface* (Doctoral dissertation, Université de Rouen).
- **O'hara, C. M. (2005).** Manual and automated instrumentation for identification of Enterobacteriaceae and other aerobic gram-negative bacilli. *Clinical microbiology reviews*, 18(1), 147-162.
- **Okusu H., Ma D. & Nikaido H., 1996.** Acr AB efflux pump plays a major role in the antibiotic resistance phenotype of *Escherichia coli* multiple-antibiotic-resistance (Mar) mutants. *Journal of Bacteriology*, 178 : 306-308.
- **OMS, (2017).** Visité le **Dimanche (19/12/2021)**, à **14:24h**. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
- **OMS, (2017).** Visité le **Vendredi (10/12/2021)**, à **18 :34h**. Disponible sur : <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
- **OMS, (2020)** .Visité le **Dimanche (02/02/2022)**, à **16 :23h** .Disponible sur : **11**<https://www.who.int/publications/i/item/9789240011007>
- **Ouedraogo, A. S., Jean-Pierre, H., Banuls, A. L., Ouédraogo, R., & Godreuil, S. (2017).** Émergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest: facteurs favorisants et évaluation de la menace. *Médecine et Santé Tropicales*, 27(2), 147-154.
- **Park Y.J., Yu J.K., Kim S.I., Lee K. & Arakawa Y., 2009.** Accumulation of plasmidmediated fluoroquinolone resistance genes, *qepA* and *qnrS1*, in *Enterobacter aerogenes* co-producing RmtB and class A beta-lactamase LAP- 1. *Annals Clinical and Laboratory Science*, 39 : 55-59.
- **Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. (2005).** Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clinical microbiology reviews*, 18(4), 657-686.
- **Perichon B., Bogaerts P., Lambert T., Frangeul L., Courvalin P. & Galimand M., 2008.** Sequence of conjugative plasmid pIP1206 mediating resistance to aminoglycosides by 16S rRNA methylation and to hydrophilic fluoroquinolones by efflux. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52 : 2581-2592.

Références bibliographiques

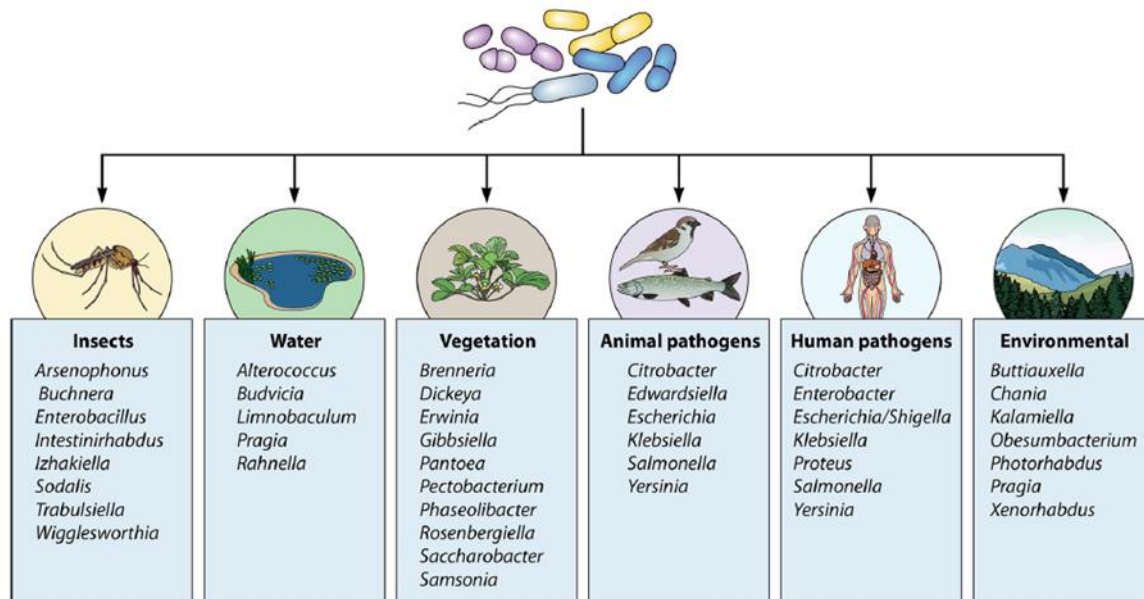
- **Perović, S., Veinović, G., & Antic Stanković, J. (2018).** A review on antibiotic resistance: Origin and mechanisms of bacterial resistance as biological phenomenon. *Genetika-Belgrade*, 50(3), 1123-1135.
- **Perry, C. M. (2021).** Antibiotic Resistance Crisis Spurring Phage Therapy Research.
- **Philippon, A. (2013).** Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE). *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 28(5-6), 287-296.
- **Philippon, A., & Arlet, G. (2006, January).** Beta-lactamases of Gram negative bacteria: never-ending clockwork!. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 64, No. 1, pp. 37-51).
- **Pieboji, J. G. (2007).** Caractérisation des beta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. *Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat s Sciences en Biochimie*.
- **Pilly, E. (2008).** Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales. *Paris: Vivactis Plus Ed.*
- **Prével, R. (2019).** Mécanismes de dissémination des Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi en médecine intensive réanimation (Doctoral dissertation, Bordeaux).
- **Ramoul, A. (2013).** Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses [thèse Microbiol]. *Annaba: Université Badji Mokhtar-Annaba*.
- **Rania, B. E. N. S. E. G. H. I. R., & Wided, K. D. Y. A. (2020).** Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries responsables d'infections urinaires (Doctoral dissertation).
- **Redjeb, S. B., Hassen, A. B., Verdet, C., Arlet, G., Bouabdallah, F., & Philippon, A. (1999).** β -lactamase plasmidique (AmpC) chez un *Proteus mirabilis* en Tunisie. *Médecine et maladies infectieuses*, 29(6), 415-417.
- **Reller, L. B., Weinstein, M., Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. (2009).** Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical infectious diseases*, 49(11), 1749-1755.
- **Resistancecontrol, (2018).** Visité le Jeudi (19/05/2022) à 15 :36h. Disponible sur : <http://resistancecontrol.info/2018-frontpage-francais/4f/algerie-programme-de-prevention-et-de-control-des-infections-a-bacteries-multi-resistantes-en-milieu-de-soins/>
- **Riegel, P., de Briel, D., & Dauwalder, O. (2016).** Automatisation de l'identification bactérienne. *Revue francophone des laboratoires*, 2016(482), 39-47.
- **Robin, F., Gibold, L., & Bonnet, R. (2012).** Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries: comment les identifier en pratique quotidienne?. *Revue Francophone des laboratoires*, 2012(445), 47-58.
- **Rodriguez-Martinez J.M., Cano M.E., Velasco C., Martinez-Martinez L. & Pascual A., 2010.** Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 17 : 149-182.
- **Rodriguez-Villalobos, H., & Struelens, M. J. (2006).** Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu: implications pour le réanimateur. *Réanimation*, 15(3), 205-213.
- **Rossolini, G. M., D'andrea, M. M., & Mugnaioli, C. (2008).** The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 33-41.
- **Roux, V., Rolain, J.-M. (2020).** (I - Généralités Et Santé Publique .Chapitre 01 - Identification Des Bactéries Par Biologie Moléculaire).In. (EMC MALADIES INFECTIEUSES). édition sba-medecine.com.
- **Roy, P. H. (1997).** Dissémination de la résistance aux antibiotiques: le génie génétique à l'oeuvre chez les bactéries.
- **Ruppé, E., & de Lastours, V. (2012).** Entérobactéries résistantes aux antibiotiques et microbiote intestinal: la face cachée de l'iceberg. *Réanimation*, 21(3), 252-259.

Références bibliographiques

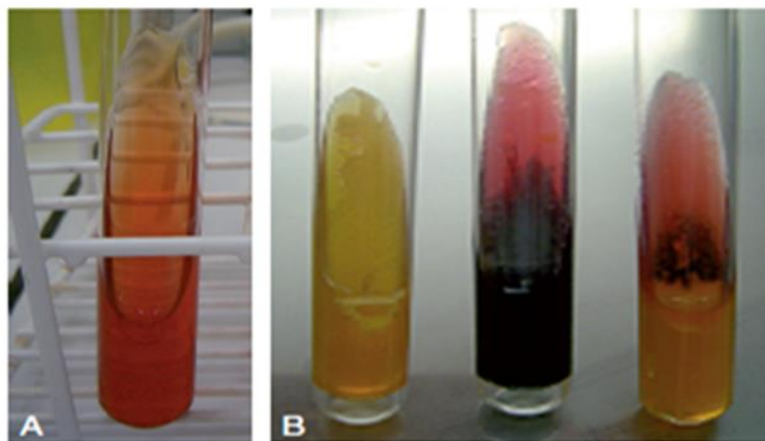
- **Saadoun M.,(2020).**Epidémiologie et niveau de résistance des bactéries responsables des infections urinaires à Béni Mellal. Thèse de doctorat : En Médecine. Université de : Cadi Ayyad, 41p
- **Sabundayo, B. P., & Calderón, C. B. (2007).** 16 Pharmacy and Microbiology: Interactive Synergy. *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*, 363.
- **Sawa, T., Kooguchi, K., & Moriyama, K. (2020).** Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *Journal of intensive care*, 8(1), 1-13.
- **Schaffer, J. N., & Pearson, M. M. (2017).** *Proteus mirabilis* and urinary tract infections. *Urinary Tract Infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management*, 383-433.
- **Scheffler, R. J., Colmer, S., Tynan, H., Demain, A. L., & Gullo, V. P. (2013).** Antimicrobials, drug discovery, and genome mining. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(3), 969-978.
- **Schumacher A., Steinke P., Bohnert J.A., Akova M., Jonas D. & Kern W.V., 2006.** Effect of 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine, a novel putative efflux pump inhibitor, on antimicrobial drug susceptibility in clinical isolates of Enterobacteriaceae other than *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57 : 344-348.
- **Sefton, A. M. (2002).** Mechanisms of antimicrobial resistance. *Drugs*, 62(4), 557-566.
- **Skali, Z. (2016).** Antibiothérapie des bactéries multi-résistantes.
- **Sköld, O. (2000).** Sulfonamide resistance: mechanisms and trends. *Drug resistance updates*, 3(3), 155-160.
- **Speer, B. S., Shoemaker, N. B., & Salyers, A. A. (1992).** Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. *Clinical microbiology reviews*, 5(4), 387-399.
- **Stackebrandt E., (2003).** The richness of prokaryotic diversity: there must be a species somewhere. *Food technol Biotechnol* 41: 17-22.
- **Souna, D., Amir, A. S., Bekhoucha, S. N., Berrazeg, M., & Drissi, M. (2014).** Molecular typing and characterization of TEM, SHV, CTX-M, and CMY-2 β -lactamases in *Enterobacter cloacae* strains isolated in patients and their hospital environment in the west of Algeria. *Médecine et maladies infectieuses*, 44(4), 146-152.
- **Tan, S. Y., & Tatsumura, Y. (2015).** Alexander Fleming (1881-1955): Discoverer of Penicillin. *Singapore Medical Journal*, 56(7), 366-367.
- **Tani, Z. B. A. K., & Arlet, G. (2014).** Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie*, 62(3), 169-178.
- **Tao, R., Ying, G. G., Su, H. C., Zhou, H. W., & Sidhu, J. P. (2010).** Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in Enterobacteriaceae isolated from the Pearl rivers in South China. *Environmental Pollution*, 158(6), 2101-2109.
- **Tran J.H., Jacoby G.A. & Hooper D.C. 2005.** Interaction of the plasmid encoded quinolone resistance protein Qnr A with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49 : 118-125.
- **Van Bambeke, F., & Pharm, S. (2007).** Pharmacologie et Pharmacothérapie anti-infectieuse. *Syllabus Natl Belge Pharmacol*, 2008, 1-134.
- **VERBEKE, N. (2006).** L'aromatherapiecomme alternative credible l'antibiotherapie. *Préparatrice en pharmacie*, 20.
- **Verhaegen, J., Van de Ven, J., Verbiest, N., Van Eldere, J., & Verbist, L. (2000).** Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and antibiotic resistance in Belgium—update (1994–98). *Clinical microbiology and infection*, 6(6), 308-315.
- **Veyssiere, A. (2019).** La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaire (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bordeaux. 105p).

- **Vodovar, D., Marcadé, G., Raskine, L., Malissin, I., & Mégarbane, B. (2013).** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi: épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *La Revue de médecine interne*, 34(11), 687-693.
- **Von Wintersdorff, C. J., Penders, J., Van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., Van Alphen, L. B., ... & Wolffs, P. F. (2016).** Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. *Frontiers in microbiology*, 173.
- **Wachino J. & Arakawa Y., 2012.** Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: an update. *Drug Resistance Update*, 15 : 133-148
- **Wang H., Dzik-Fox J.L, Chen M. & Levy S.B., 2001.** Genetic characterization of highly fluoroquinolone-resistant clinical *Escherichia coli* strains from China: role of *acrR* mutations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45: 1515-1521.
- **Weinstein, R. A., & Hooper, D. C. (2005).** Efflux pumps and nosocomial antibiotic resistance: a primer for hospital epidemiologists. *Clinical infectious diseases*, 40(12), 1811-1817.
- **Wilson, D. N. (2014).** **Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance.** *Nature Reviews Microbiology*, 12(1), 35-48.
- **Woese, C. R. (1987).** Bacterial evolution. *Microbiological reviews*, 51(2), 221-271.
- **Yahiaoui, M., Robin, F., Bakour, R., Hamidi, M., Bonnet, R., & Messai, Y. (2015).** Antibiotic resistance, virulence, and genetic background of community-acquired uropathogenic *Escherichia coli* from Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 21(5), 516-526.
- **Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Ouar Korich, M. N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91(1), 5-12.
- **Zainab, S. M., Junaid, M., Xu, N., & Malik, R. N. (2020).** Antibiotics and antibiotic resistant genes (ARGs) in groundwater: A global review on dissemination, sources, interactions, environmental and human health risks. *Water research*, 187, 116455.
- **Zaman, S. B., Hussain, M. A., Nye, R., Mehta, V., Mamun, K. T., & Hossain, N. (2017).** A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing. *Cureus*, 9(6).
- **Zankari, E., Hasman, H., Kaas, R. S., Seyfarth, A. M., Agersø, Y., Lund, O., ... & Aarestrup, F. M. (2013).** Genotyping using whole-genome sequencing is a realistic alternative to surveillance based on phenotypic antimicrobial susceptibility testing. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 68(4), 771-777.
- **Zhao J., ChenJ., ZhaoM., Qiu X., Chen X., Zhang W., SunR., Ogutu J. O. & Zhang F.,2016.** Multilocus Sequence Types and Virulence Determinants of Hypermucoviscosity- Positive *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Community-Acquired Infection Cases in Harbin, North China. *Journal of Infectious Diseases*, 69 : 357-360.
- **Ziadi, H. (2011).** Essai d'amélioration du taux de rétention de la tétracycline dans un polymère à empreinte moléculaire formé de co-polymères fonctionnalisés de l'acide lactique.
- **Zurfluh, K., Treier, A., Schmitt, K., & Stephan, R. (2020).** Mobile fosfomycin resistance genes in Enterobacteriaceae—an increasing threat. *Microbiologyopen*, 9(12), e1135.

Annexes



Annexes 1. Représentation catégorique des principaux genres d'entérobactéries associés à divers écosystèmes (Janda et Abbott, 2006).



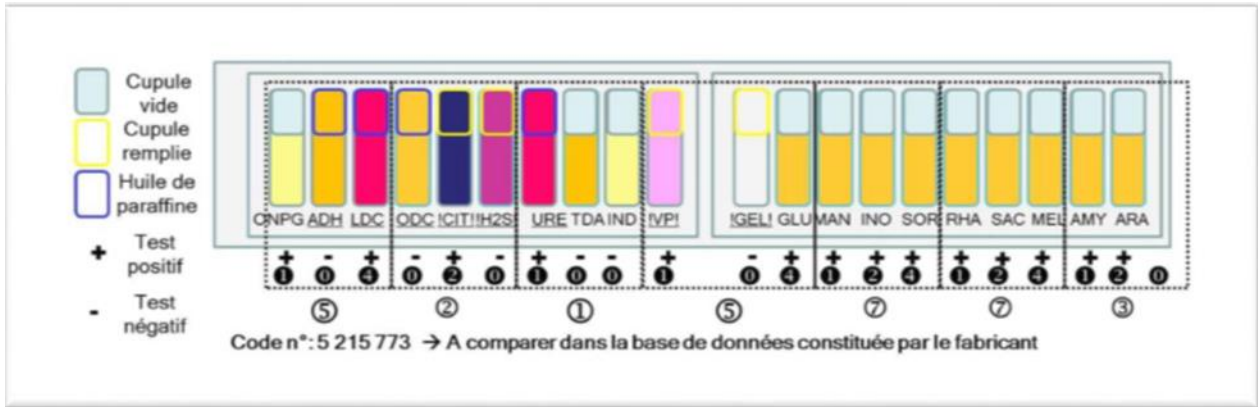
Annexe 2. Interprétation des résultats du milieu Kligler-Hajna (Denis, 2011)

A) Milieu de Kligler-Hajna nonensemencé.

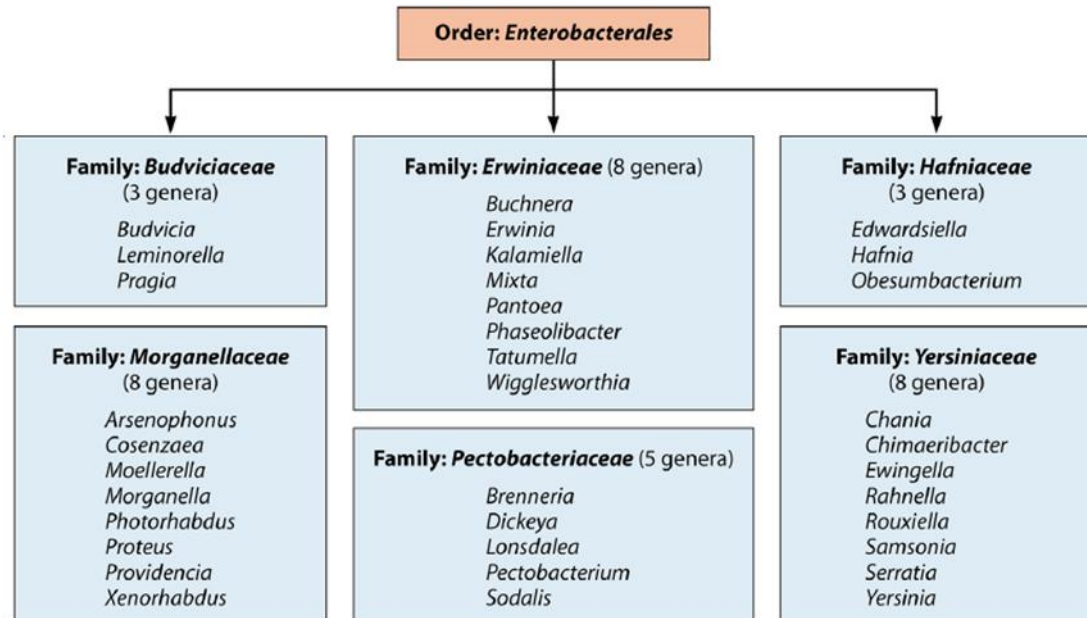
B) De gauche à droite, Bactérie glucose +, lactose +, productrice de gaz

(*Escherichia .coli*) ; Bactérie glucose +, lactose –, H₂S +, productrice de gaz ;

Bactérie glucose +, lactose –, H₂S + faiblement (*Salmonella Typhi*).



Annexe 3. Principe d’API20E (Ephytia, 2022)



Annexe 4. Six familles nouvellement proposées pour inclusion dans l’ordre Enterobacterales (Janda et Abbott, 2021).

Annexe 5. Questionnaires ; Evaluation des connaissances sur la résistance bactérienne et l'antibiothérapie



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Larbi
Tebessi- Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Questionnaires

La résistance bactérienne est un enjeu majeur de santé publique corrélée aux plusieurs facteurs. Nous en tant qu'étudiantes de Master en microbiologie appliquée, nous réalisons une étude sur cette situation et nous avons donc procédé à une évaluation pour en savoir plus sur les connaissances et les habitudes des étudiants en ce qui concerne l'utilisation des antibiotiques. Nous vous invitons sincèrement à participer à cette enquête en remplissant le questionnaire suivant. Votre contribution à cette évaluation est précieuse. Enfin, nous vous assurons que les informations restent anonymes et ne seront utilisées qu'à des fins académiques.

Date :

Age :

Sexe :

Spécialité :

1. Avez-vous déjà entendu parler de résistance des bactéries aux antibiotiques

Oui Non

2. Vos sources d'information à propos des antibiotiques ?

Entourage (famille, amis...) Notices de médicaments
 Pharmacien Médecin

3. Prenez-vous souvent d'antibiotiques ?

Oui Non

Si oui, citer un:

4. Pour combien de jour avez-vous pris l'antibiotique ?

1j 2j 3j 4j 5j 6j 7j 8j 10j

5. Lorsque votre médecin vous prescrit des antibiotiques, respectez-vous la dose et la durée du traitement ?

Dose Oui Non
Durée Oui Non

6. Si vous ne respectez pas la durée du traitement, en prenez-vous :

Moins longtemps Plus longtemps

7. Au cours d'un traitement d'antibiotique, on arrête de prendre son antibiotique si on se sent mieux ?

Oui Non

8. Avez-vous déjà pris des antibiotiques en automédication (c'est-à-dire de vous-même, sans prescription médicale) ?

Non Oui

Si oui, quelle est la provenance ?

L'armoire à pharmacie de la maison
 Pharmacie
 Votre entourage

9. La fréquence de recours à l'automédication par un antibiotique :

Au moins une fois par mois.
 Souvent (4 à 5 fois par an).
 Rarement (1 à 2 fois par an).

10. Avez-vous réalisé, avec votre médecin des tests de diagnostic afin de savoir si la maladie est due à une bactérie, ou un virus ?

Oui Non

11. Demandez-vous à avoir des antibiotiques à votre médecin traitant ?

Oui Non

Si oui, à cause de ?

Effets indésirables

Une habitude

Autres

12. Oui / Non/ Ne sait pas

		O ui	Non	Ne sais pas
Les antibiotiques sont utilisés pour les situations suivantes?	Une infection virale			
	Une infection bactérienne			
	Une infection microbienne			
	Une infection fongique			
	Une Bronchite			
	Une Angine			
	Une gastro-entérite			
Un même antibiotique peut agir sur tout type d'infection (ORL, urinaire, cutanée, génitale...)				
La prise d'antibiotique accélère la guérison d'une infection				
Un antibiotique peut devenir inefficace s'il est mal utilisé				
Peuvent être utilisés de manière répétée et être toujours aussi efficaces				

13. En période d'épidémie (COVID, rhume, pneumonie, bronchite), est-il utile à prendre des antibiotiques à titre préventif ? oui non

14. La consommation d'antibiotiques dans la population peut favoriser l'apparition de bactéries résistantes : Oui Non

15. Pensez-vous que l'antibiotique que vous avez pris est moins efficace qu'avant ? Oui Non

Si oui, pourquoi d'après vous ?

- Utilisation fréquente des antibiotiques
- Non-respect des doses et de durée de traitement
- Utilisation des génériques
- Une mauvaise hygiène
- Une antibiothérapie prolongée
- De faibles posologies (dose/durée) d'antibiotiques
- Une surabondance de prescriptions d'antibiotiques
- Automédication

16. Vous arrive-t-il de conseiller un antibiotique à votre entourage ?

- Oui
- Non
- Souvent

17. Pour traiter une infection, au lieu d'un antibiotique, avez-vous eu recours à une :

- Phytothérapie (par les plantes médicinales)
- Aromathérapie (par les huiles essentielles)
- Autres

18. Pour devenir un consommateur d'antibiotique responsable, je dois :

- Utiliser l'antibiotique uniquement sur prescription d'un médecin
- Arrêter la consommation d'antibiotiques
- Prendre le même antibiotique prescrit lors d'un traitement précédent si les symptômes semblent être identiques
- Utiliser le traitement à titre personnel sans le partager avec d'autre personne présentant les mêmes signes

Merci pour votre participation

Annexe 6 .Génotypes de résistance des entérobactéries (plus détaillé).

Mécanisme de résistance	types de mécanisme	Mode d'action	Gènes	Nombres
Béta-lactamase	Types CTX	l'inactivation enzymatique	blaCTX-M-15	59
			blaCTX-M-1	14
			blaCTX-M-3	14
			blaCTX-M-14	8
			bla CTX-M	5
			blaCTX-M-2	2
			blaCTX-M-8	1
			blaCTX-M-9	1
			blaCTX-M24	1
			blaCTX-M-28	1
			blaCTX-M-32	1
			blaCTX-M-38	1
			blaCTX-M-55	1
	bla TEM		16	
	blaTEM-1B		1	
	blaTEM-1D		1	
	blaTEM-1		26	
	blaTEM-2		2	
	blaTEM-4		2	
	blaTEM-12		1	
	blaTEM-24		1	
	blaTEM-30		1	
	blaTEM-31		1	
	blaTEM-35		1	
	blaTEM-48		1	
	blaTEM-71		1	
	blaTEM-136		1	
	blaTEM-141		1	
	blaTEM-163		1	
	blaTEM-167		1	
	blaTEM-183		1	
	blaTEM-188.		1	
	blaTEM-198		1	
bla SHV	6			
blaSHV-1	5			
blaSHV-1a	2			
blaSHV-2	2			
blaSHV-2a	2			
blaSHV-5	1			
blaSHV-10	1			
blaSHV-11	5			
	Types TEM			
	Types SHV			

		blaSHV-12	12
		blaSHV-26	1
		blaSHV-27	1
		blaSHV-28	3
		blaSHV-32	2
		blaSHV-33	1
		blaSHV-98	1
		blaSHV-99	1
		blaSHV-100	1
		blaSHV-101	1
		blaSHV-106	1
		blaSHV-133	2
		blaSHV-148	1
		blaSHV-182	1
		bla AmpC	1
		blaCMY-1	1
		blaCMY-2	6
		blaCMY-4	2
		blaCMY-16	2
		blaCMY-42	1
		blaCMY-50	1
		bla DHA	1
		blaDHA-1	5
		bla CIT	1
		blaFOX-1	1
		bla KPC	2
		blaKPC-2	1
		blaKPC-3	1
		blaVIM-19	1
		bla NDM	2
		blaNDM-1	3
		blaNDM-5	4
		bla OXA	1
		blaOXA-1	6
		blaOXA-24	1
		blaOXA-48	30
		blaOXA-244	1
	Céphalosporinases		
	carbapénémases classe A		
	Carbapénémases classe B		
	Carbapénémases classe D		

Aminoglycosides	Modification de la cible (ribosomale)	armA	5
		rmtB	1
		rmtC	1
	l'inactivation enzymatique	aac (3')-I	2
		aac (3')-Ia	1
		aac (3')-II	3
		aac (3')-IIa	3
		aac(3)-IId	1

Annexes

		aac (3')-III	1
		aac (3')-IV	2
		aph (3')-Ia	1
		aadA	1
		aadA1	2
		aadA2	4
		aadA5	1
		aadA7	1
		ant (2')-I	3
		ant (2')-Ia	1
Quinolones	Protection de la cible (ADN gyrase)	qnrA	3
		qnrA1	1
		qnrB	8
		qnrB1	6
		qnrB2	3
		qnrB4	1
		qnrB5	2
		qnrB9	2
		qnrB19	2
		qnrB42	2
		qnrB72	1
		oqxAB	2
		qnrD	1
		qnrS	6
		qnrS1	8
Quinolones	un système d'efflux actif	qepA	2
	l'inactivation enzymatique	aac (6')-Ib	3
olymyxines(Colistine)	Modification de LPS	aac (6')-Ib-cr	20
		mcr-1	8
		mcr-3	1
Tétracycline	un système d'efflux actif	mcr-8	1
		tetA	5
Sulfonamide	l'inactivation enzymatique	tetB	3
		su11	5
		su12	5
Triméthoprime	l'inactivation enzymatique	su13	3
		dfrA-1	3
		dfrA-5	1
		dfrA-12	3
		dfrA-14	3
Macrolide	l'inactivation enzymatique	dfrA-25	1
Fosfomycine	l'inactivation enzymatique	mphA	1
Chloramphénicol	l'inactivation enzymatique	fosA	1
		catA2	1
		catB3	1

