



République algérienne démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la  
recherche scientifique



Université de Tébessa  
Faculté des sciences exactes et des 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.  
Option : Microbiologie appliquée

## Thème

# Recherche des carbapénèmases chez des souches bactériennes cliniques

Présenté par :  
Bouguessa Amel  
Amara Nadjette

Devant le jury :

Dr Belbel. Z	MCB	Université de Tébessa	Présidente
Dr Debabza. M	MCB	Université de Tébessa	Promotrice
Dr Mechai. A	MCA	Université de Tébessa	Co-promoteur
Mr Zouaoui. N	MAA	Université de Tébessa	Examineur

Date de soutenance : 29 Mai 2018

## ملخص

أصبحت البكتيريا المقاومة للكاربابينيم موزعة عالميا في السنوات العشر الأخيرة , مما أثار المخاوف بشأن التحكم في عدوى المستشفيات والعلاج بالمضادات الحيوية. إنتاج إنزيم كاربابينيماز يعتبر احد الآليات المعتمدة في المقاومة ضد الكاربابينيم .

الهدف من هذا العمل هو تقييم تواتر إنتاج كاربابينيماز في السلالات السريرية .

تم جمع عدة عينات من المرضى من داخل وخارج مستشفى بوقرة بولعراس في بكاريا . بعد العزل وفقا للطريقة النموذجية ، تم تحديد الهوية من خلال API20E أو نظام فيتيك . دراسة الحساسية ضد الكاربابينيم أجريت وفقا لطريقة انتشارالأقراص.تم البحث عن إنتاج الكاربابينيماز بواسطة الاختبار Carba NP والذي يعتمد على تحمض الوسط من خلال مؤشر اللون أثناء تحلل الايميبيينيم بالكاربابينيماز. اختبار ظاهري آخر أجري :اختبار هودج المعدل للسلالات المنتجة للكاربابينيماز.

من بين 344 عينة، 80 أعطت عصيات سالبة الجرام . السلالات المحددة تنتمي إلى مختلف الأنواع : *Serratia* (36.25%) , *Klebsiella* (32.50%) , *Enterobacter* (11,25%) , *Escherichia* (10%) , *Kluyvera* (2,5%) , *Morganella* (1,25%) , *Salmonella* (1,25%) , *Proteus* (2,5%) , *Acinetobacter* (1,25%) , *Pseudomonas* (1,25%) , أظهرت نتائج اختبار الحساسية للكاربابينيم ارتفاع معدل المقاومة ضد ايميبيينيم (50%) و ايرتابينيم (45.24%) كان اختبار Carba NP موجبا ل11 عينة من بين 80 عينة بنسبة 13.75%. و كان اختبار هودج المعدل موجبا ل11/7 من سلالات Carba NP الإيجابية.

تبين دراستنا وجود البكتيريا المنتجة للكاربابينيماز وكذلك مستويات عالية من المقاومة للكاربابينيم عند السلالات السريرية المعزولة . هذه النتائج ترصد اعتماد سياسة لمراقبة المقاومة ضد الكاربابينيم مركزة على الكشف السريع، من أجل السيطرة على انتشار السلالات المقاومة في المستشفيات.

الكلمات المفتاحية : بكتيريا معوية، مقاومة الكرابينيم ،الكاربابينيماز ، اختبار CarbaNP، اختبار هودج المعدل .

## Abstract

Carbapenem-resistant bacteria have become globally distributed over the past decade, raising concerns about the control of hospital infections and antibiotic treatments. The production of carbapenemase is one of the mechanisms involved in carbapenem resistance.

The objective of this work is to evaluate the frequency of carbapenemase production in clinical strains.

Several samples were collected from patients hospitalized or not at Bouguerra boulaares hospital in Bekarria. After isolation according to standard methods, the identification was carried out by API20E or vitek system. The study of carbapenem sensitivity was carried out according to the diffusion method in agar medium. The carbapenemase production was investigated by the carba NP test based on the acidification of the medium using a colored indicator during hydrolysis of imipenem by carbapenemase. Another phenotypic test: modified Hodge test was performed for the carbapenemase-producing strains.

From 344 samples, 80 gave Gram negative bacilli. The identified strains belong to different genera: *Serratia* (36.25%), *Klebsiella* (32.50%), *Enterobacter* (11.25%), *Escherichia* (10 %), *Kluyvera* (2.5%), *Proteus* (2.5%), *Salmonella* (1.25%), *Morganella* (1.25%), *Acinetobacter* (1.25%) and *Pseudomonas* (1.25%). The results of the carbapenem susceptibility test showed high levels of resistance to imipenem (50%) and ertapenem (45.24%). The carba NP test was positive for 11/80 strains or 13.75%. The Hodge test was positive for 7/ 11 carba NP positive strains.

Our study shows the presence of carbapenemase-producing bacteria, as well as high levels of carbapenem resistance in isolated clinical strains. These results suggest the establishment of a policy of surveillance of carbapenem resistance based on rapid detection, in order to control the diffusion of resistant strains in hospitals.

**Key words:** Enterobacteriaceae, carbapenem resistance, carbapenemases, Carba NP test, modified Hodge test.

## Résumé

Les bactéries résistantes aux carbapénèmes ont vu leur distribution devenir mondiale au cours de la dernière décennie, ce qui suscite des inquiétudes quant au contrôle des infections hospitalières et des traitements antibiotiques. La production de carbapénèmases constitue l'un des mécanismes impliqués dans la résistance aux carbapénèmes.

L'objectif de ce travail consiste à évaluer la fréquence de production des carbapénèmases chez des souches cliniques.

Plusieurs échantillons ont été prélevés à partir des malades hospitalisés ou non à l'hôpital Bouguerra Boulaares à Bekarria. Après l'isolement selon les méthodes standards, l'identification a été réalisée par API20E ou système vitek. L'étude de la sensibilité aux carbapénèmes a été effectuée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé. La production de carbapénèmases a été recherchée par le test Carba NP basé sur l'acidification du milieu grâce à un indicateur coloré lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. Un autre test phénotypique : test de Hodge modifié, a été réalisé pour les souches productrices des carbapénèmases.

A partir de 344 échantillons prélevés, 80 ont donné des bacilles à Gram négatif. Les souches identifiées appartiennent aux différents genres : *Serratia* (36.25%), *Klebsiella* (32.50%), *Enterobacter* (11.25%), *Escherichia* (10 %), *Kluyvera* (2.5%), *Proteus* (2.5%), *Salmonella* (1.25%), *Morganella* (1.25%), *Acinetobacter* (1.25%) et *Pseudomonas* (1.25%). Les résultats du test de sensibilité aux carbapénèmes ont montré des taux de résistance élevés à l'imipénème (50%) et à l'ertapénème (45.24%). Le test Carba NP a été positif pour 11/80 des souches soit 13,75%. Le test Hodge réalisé a été positif pour 7/ 11 souches Carba NP positives.

Notre étude montre la présence des bactéries productrices de carbapénèmases, ainsi que des taux élevés de résistance aux carbapénèmes chez les souches cliniques isolées. Ces résultats suggèrent l'installation d'une politique de surveillance de la résistance aux carbapénèmes basée sur la détection rapide, afin de maîtriser la diffusion des souches résistantes au sein des établissements hospitaliers.

**Mots clés :** entérobactéries, résistance aux carbapénèmes, carbapénèmases, test Carba NP, test de Hodge modifié.

## **Remerciements**

*Nous remercions tout d'abord Allah de nous avoir donné  
Le courage d'entamer et de finir ce mémoire dans de bonnes conditions.*

*Nous remercions vivement notre encadreur  
«**Mme.Mechai.M** », d'avoir dirigé ce travail avec beaucoup de compétences.*

*Merci pour votre indéfectible disponibilité,  
Votre rigueur scientifique et la confiance que vous nous avez accordée au cours de l'élaboration de  
ce mémoire.*

*Merci pour votre aide et votre encouragement ;*

*Merci pour l'acuité de vos Critiques et pour vos conseils éclairés.*

*Vraiment c'est l'excellente promotrice puisque très sympathique, stricte et gentille.*

*Nos remerciements vont également à notre Co-encadreur «**Mr.Mechai** » pour ses conseils, son  
encouragement et ses directives.*

*Nous remercions **Dr Belbel. Z** et **Mr Zouaoui. N** d'avoir accepté d'évaluer notre travail*

*Nous remercions tous les enseignants qui ont contribué à notre formation  
pendant les années passées.*

*Sans oublier de remercier nos chers parents qui ont contribué à l'avancement de toute  
belle chose dans notre vie et aux dévouements qu'ils nous ont consacrés à notre éducation et nos  
études.*

*Nous remercions tous nos collègues la promotion de 2<sup>ème</sup> année master microbiologie appliquée :  
2017-2018 et nos très chères amies pour leur esprit de groupe pendant le travail pratique,*

*Nous n'oublions pas l'équipe de travail du laboratoire microbiologie  
de l'hôpital Bouguerra Boulaares, en particulier les techniciennes **Linda, Marwa, Warda** pour leur  
aide et leur confiance.*

## *Dédicace*

*Je remercie Dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire :*

*« Ya Hay ya kayoum »*

*A Ma très chère mère*

*Je dédie ce modeste de travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, école de mon enfance qui a été mon ombre durant toutes les années d'études, qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager et qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite. Le crève-cœur de lever mes mains vers le ciel et de dire :*

*«Allah yarhmek »*

*A Mon très cher Père*

*A celui l'exemple du courage, du dévouement, de l'honnêteté, de la Persévérance et du sacrifice.*

*Mes chères sœurs*

*Siham, Kawther et Soulef, Merci pour votre support continu et de votre Amour.*

*A Mes très chers frères*

*Salem, Anoir et Aïssa Puisse Dieu tout puissant jouir votre vie, vous combler d'avantage, vous apporter du bonheur.*

*A Mon Fiancé*

*Touba .Ch. A m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger. Que Dieu les garde et les protège.*

*A Mes oncles et tantes*

*A toutes mes amies, particulièrement :*

*Souad, Amel, Sara, Chafia, Khawlla, Mounia, Wessal et Houria, Karima, Bariza et Dallal.*

*A tous mes collègues de promotion de 2<sup>ème</sup> année master microbiologie appliquée : 2017-2018.*

*Je veux dédier aussi un grand merci à mon binôme Amel, Merci pour votre amour et votre amitié.*

*A tous ceux que j'aime.*

*Nadjette*

## *Dédicace*

*A cœur vaillant rien d'impossible  
A conscience tranquille tout est accessible  
Quand il y a la soif d'apprendre  
Tout vient à point à qui sait attendre  
Quand il y a le souci de réaliser un dessein  
Tout devient facile pour arriver à nos fins  
Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys,  
Nous prions dieu que cette soutenance  
Fera signe de persévérance*

*Et que nous serions enchantés Par notre travail honoré  
Je dédie ce mémoire à ...*

*A ma très chère mère Maïssa  
Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par  
excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de  
m'encourager et de prier pour moi.*

*A mon Père Abd elouaheb*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai  
toujours eu pour vous.*

*A mes très chères sœurs : Nadia, Oumeïma, Wafa, Meriem*

*En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous  
A mes chers frères : Ramzi, Farid, Nacereddine, Mohamed, Hassib, Walid, Zakaria, Adel,  
Farouk qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de  
générosité . Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite  
A tous les membres de ma famille, petits et grands. Veuillez trouver dans ce modeste  
travail l'expression de mon affection*

*A notre chère encadreur Docteur DEBABZA Manel un remerciement particulier et sincère  
pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présente. Que ce travail soit un  
témoignage de ma gratitude et mon profond respect*

*A mes chères amies : Rima, Souad, Nesrine*

*A mes chères collègues Halima, Asma, Laila, Lamia, Yousra  
je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur  
Je veux dédier aussi un grand merci à mon binôme Nadjette,  
Merci pour votre amour et votre amitié.*

*A tous ceux que j'aime.*

**AMEL**

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Classification des carbapénémases et spectres d'hydrolyse	<b>09</b>
<b>02</b>	Variants et espèces d'entérobactéries produisant les principales carbapénémases acquises	<b>11</b>
<b>03</b>	Diamètres critiques des zones d'inhibition correspondant aux carbapénèmes utilisées	<b>22</b>
<b>04</b>	Tableau d'interprétation des résultats du Carba NP Test	<b>26</b>
<b>05</b>	Résultats de l'identification par Api20E et Vitek	<b>30</b>
<b>06</b>	Distribution des entérobactéries isolées des urines en fonction de l'espèce	<b>36</b>
<b>07</b>	Distribution des souches selon les espèces	<b>38</b>
<b>08</b>	Résultats du test Carba NP	<b>40</b>
<b>09</b>	Description des souches productrices de carbapénémases	<b>42</b>



## Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Structure chimique de base des carbapénèmes	04
02	Structures chimiques des carbapénèmes	04
03	Mécanismes d'altération des porines	06
04	Stratégie de détection des bactéries productrices des carbapénèmases	18
05	Principe du Carba NP test	24
06	Les résultats de carba NP test	26
07	Test Hodge modifié	27
08	Quelques aspects culturels obtenus sur GC et MC	28
09	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 23 ( <i>Serratia marcescens</i> ).	33
10	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 13 ( <i>Serratia odorifera</i> ).	33
11	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 68 ( <i>Serratia liquefaciens</i> ).	33
12	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 29 ( <i>Enterobacter cloacae</i> ).	33
13	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 52 ( <i>Enterobacter aerogenes</i> ).	33
14	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 22 ( <i>Enterobacter gergoviae</i> ).	33
15	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 66 ( <i>Enterobacter sakazakii</i> ).	33
16	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 49 ( <i>Escherichia coli</i> ).	33
17	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 33 ( <i>Klebsiella ornithinolytica</i> ).	33
18	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 48 ( <i>Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae</i> ).	33
19	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 39 ( <i>Proteus mirabilis</i> ).	34
20	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 44 ( <i>Kluyvera spp</i> ).	34
21	Photographie de l'Api 20 <sup>E</sup> de la souche 15 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ).	34
22	Répartition des souches en fonction des services.	34
23	Répartition des souches en fonction du de prélèvement.	35
24	Répartition des souches en fonction des genres.	37
25	Taux de résistance et de sensibilité aux Carbapénèmes.	40
26	Résultats de test carba NP.	41
27	Résultats du test Hodge modifié.	44

## Liste des abréviations

<b>BC</b>	<i>Bacillus cereus</i>
<b>BLSE</b>	$\beta$ -lactamases à spectre étendu
<b>BGN</b>	bacilles à Gram négatif
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>CTX</b>	Céfotaximase
<b>C3G</b>	céphalosporines de troisième génération
<b>EDTA</b>	Acide éthylène diamine tétraacétique
<b>GES</b>	Guiana extended spectrum
<b>IMI</b>	Imipenemase
<b>IMP</b>	Active on imipenem
<b>KPC</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénémase
<b>MBL</b>	Métallo- $\beta$ -lactamase
<b>NDM</b>	New-Delhi métallo- $\beta$ -lactamase
<b>NMCA</b>	non-metallo carbapenemase-A
<b>OXA</b>	Oxacillinase
<b>PLP</b>	protéines de liaison à la pénicilline
<b>SARM</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
<b>SME</b>	<i>Serratia marcescens</i> enzyme
<b>VIM</b>	Verona integron coded metallo- $\beta$ -lactamase

# Sommaire

ملخص

Abstract.

Résumé

Remerciements.

Dédicaces.

Table des matières.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Liste des symboles.

Introduction.

## Chapitre I : Revue bibliographique

I. Carbapénèmes.....	[03]
I.1.Molécules disponibles.....	[03]
I.2.Structure chimique.....	[03]
I.3.Mode d'action.....	[04]
I.4.Spectre d'activité .....	[05]
I.5.Mécanismes de résistance aux carbapénèmes.....	[05]
I.5.1.Mécanisme enzymatique: carbapénémasés.....	[05]
I.5.2.Association de mécanismes.....	[06]
I.5.3.Altération des protéines de liaison des pénicillines.....	[07]
II. Carbapénémases.....	[08]
II.1.Classification.....	[08]
II.1.1.Classification fonctionnelle.....	[08]
II.1.2.Classification moléculaire.....	[08]
II.1.2.1.Carbapénémases de classe A.....	[09]
II.1.2.2. Carbapénémases de classe B.....	[11]
II.1.2.3. Carbapénémases de classe D.....	[13]

## Chapitre II : Matérielles et Méthode

I. Matériels.....	[15]
I.1. Appareillages.....	[15]
I.2. Verrerie.....	[15]
I.3. Outils.....	[15]
I.4. Réactifs et autres substance.....	[16]
I.5. Milieux de culture.....	[17]
II. Méthodes.....	[17]
II.1.Prélèvement et isolement .....	[18]
II.2. Identification biochimique par la galerie API20E.....	[19]
II.2.1.Principe et description de la galerie .....	[19]
II.2.2.Technique .....	[19]
II.3. Etude de la sensibilité aux carbapénèmes.....	[20]
II.3.1.Principe.....	[20]
II.3.2.Technique.....	[21]

II.4. Identification et antibiogramme par VITEK 2 Compact.....	[22]
II.4.1.Présentation de l'automate.....	[22]
II.4.2.Technique.....	[22]
II.5. Détection de la production de carbapénèmases par le test carba NP.....	[24]
II.5.1. Définition.....	[24]
II.5.2. Principe.....	[24]
II.5.3. Technique.....	[25]
II.6. Test de Hodge modifié.....	[26]
II.6.1. Principe.....	[26]
II.6.2.Technique.....	[26]
II.6.3.Interprétation.....	[27]
II.6.4.Avantages.....	[27]
II.6.5.Inconvénients.....	[27]

### **Chapitre III : Résultats et Discussion**

I. Examen macroscopique.....	[28]
II. Examen microscopique .....	[29]
III. Identification biochimique.....	[29]
IV. Répartition des souches en fonction des services.....	[34]
V. Répartition des souches selon le type de prélèvement.....	[34]
VI. Répartition des souches en fonction des espèces de genre.....	[36]
VII. Répartition des souches en fonction d'espèces.....	[37]
VIII. Sensibilité aux antibiotiques.....	[39]
IX. Test Carba NP.....	[40]
XI. Test Hodge modifié.....	[43]
<b>Conclusion et Perspectives.....</b>	<b>[45]</b>
<b>Références bibliographies.</b>	
<b>Annexes.</b>	

# *Introduction*

## Introduction

L'émergence de bactéries multi-résistantes est devenue un enjeu majeur de santé publique. De nombreux germes ont développé des résistances aux  $\beta$ -lactamines, qui sont les antibiotiques les plus prescrits, ayant le spectre le plus large. Devant l'utilisation croissante de ces antibiotiques, les bacilles à Gram négatif (BGN), jouant un rôle majeur en pathologie humaine, ont développé des résistances à l'ensemble des molécules de cette famille d'antibiotiques (**Lepelletier *et al.*, 2015**).

De toutes les  $\beta$ -lactamines, les carbapénèmes (imipénème, méropénème, doripénème et ertapénème) ont l'activité la plus constante contre les entérobactéries. Les carbapénèmes ont été introduites pour la première fois dans les années 1980 et sont maintenant fréquemment utilisées en dernier recours dans le traitement des infections graves causées par des souches multirésistantes de BGN (**Rodloff *et al.*, 2006**) comme les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). En une décennie, la résistance aux carbapénèmes a commencé à émerger et a été rapportée dans des BGN non fermentaires dans le monde entier au cours des années avec des fréquences variables (**Spencer *et al.*, 2002**). Récemment, toutefois, l'identification des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes est en augmentation (**Spencer *et al.*, 2002; Zhanel *et al.*, 2007**).

La résistance aux carbapénèmes peut être due à plusieurs mécanismes, parmi lesquels le mécanisme enzymatique par production des carbapénémases. Il s'agit des  $\beta$ -lactamases hydrolysant les pénicillines, et à un degré variable, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames.

Les BGN résistants aux carbapénèmes posent un problème sérieux en raison des gènes codant pour la plupart de ces carbapénémases qui résident sur des plasmides ou des transposons qui portent des gènes supplémentaires codant pour la résistance à d'autres classes d'antibiotiques (**Rasmussen *et al.*, 1996**). Ces structures transférables peuvent facilement être acquises par des agents pathogènes à Gram négatif, facilitant la dissémination de ces puissants mécanismes de résistance (**Walsh *et al.*, 2005**).

En effet, les entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) sont souvent résistantes à d'autres familles d'antibiotiques, engendrant une multi-résistance des souches et des options thérapeutiques limitées, voire des impasses thérapeutiques (**Grall *et al.*, 2011**). Du fait de l'important pouvoir de dissémination des souches productrices de carbapénémases et des options thérapeutiques restreintes pour le traitement des infections à EPC, la détection rapide et efficace des EPC est devenue un point majeur (**Dortet *et al.*, 2015**). Dans ce contexte, cette étude a été

entreprise pour rechercher l'activité carbapénèmase chez des souches cliniques isolées à l'hôpital Bouguerra Boulaares à Bekkaria-Tébessa.

Les objectifs de ce travail sont donc :

- Isolement et identification des bactéries à Gram négatif à partir des échantillons pathologiques.
- Evaluation de la résistance des souches aux carbapénèmes (imipénème et ertapénème).
- Détection de l'activité carbapénèmase chez les souches isolées par le test carba NP (Nordmann-Poirel).

Enfin, ce manuscrit est divisé en trois chapitres. Le premier chapitre est une revue bibliographique qui commence par définition de carbapénèmes, puis les molécules disponibles, la structure chimique, le mode d'action, le spectre d'activité, et les mécanismes de résistance aux carbapénèmes, et finit par définition de carbapénèmases et leur classification. Dans le deuxième chapitre, nous évoquerons le matériel et les méthodes utilisés dans l'isolement, l'identification, l'étude de sensibilité aux carbapénèmes et la détection des carbapénèmases. Ensuite, dans le dernier chapitre, nous présentons les résultats obtenus, ainsi que leur discussion. Finalement, une conclusion générale puis quelques perspectives seront présentées.

*Chapitre I*  
*Revue*  
*Bibliographique*



## I. Carbapénèmes

Les carbapénèmes jouent un rôle crucial dans l'arsenal antibiotique. Parmi les centaines de  $\beta$ -lactamines, les carbapénèmes possèdent le plus large spectre d'activité et la plus grande activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram positif et Gram négatif (**Papp-Wallace *et al.* , 2011**). Il a été suggéré que cette activité soit due aux effets combinés d'une meilleure pénétration de la paroi bactérienne par une voie d'absorption impliquant la porine OprD, une bonne stabilité à l'hydrolyse de la plupart des  $\beta$ -lactamases et une forte liaison aux protéines de liaison à la pénicilline (PLPs) (**Mascaretti ., 2003**). Ainsi, les carbapénèmes sont devenues des outils essentiels dans le traitement des infections nosocomiales sévères ou acquises dans la communauté (**Patel *et al.* , 2013**). Les carbapénèmes sont utilisées lors d'un traitement empirique ou dans le traitement des infections graves dues aux bactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE), majoritairement responsables de la résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) (**Hawkey & Livermore ., 2012**).

### I.1. Molécules disponibles

Les carbapénèmes sont une des dernières classes d'antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines. C'est en 1976 que fut découverte la thiénamycine, produite par *Streptomyces cattleya*. L'instabilité de cette molécule a rapidement conduit au développement dans les années 1980 d'un dérivé N-formimidoyl semi-synthétique et bactéricide, l'imipénème, associé à la cilastatine, inhibiteur de la déhydropeptidase rénale mais dépourvue d'activité antibactérienne. En France, l'imipénème est la molécule la plus employée. Le méropénème apparut 10 ans plus tard, est quant à lui plus répandu dans les autres pays d'Europe et en Amérique du Nord. Les années 2000 ont vu l'apparition de nouveaux carbapénèmes : l'ertapénème et le doripénème, notamment (**Gauzit *et al.* , 2010**).

### I.2. Structure chimique

Les carbapénèmes sont des  $\beta$ -lactamines qui, à la différence des pénicillines, possèdent un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1, et une liaison insaturée en C2-C3. Leur stabilité aux  $\beta$ -lactamases est due à la transorientation des atomes d'hydrogène en C5 et C6, et à la présence d'une chaîne hydroxyéthyle en C6, en place de la chaîne acylamino des pénicillines et des céphalosporines [**Figure 01**]. Les structures chimiques des différentes carbapénèmes sont présentées dans la figure 02.

Des modifications de substituant en position 2 sont responsables d'un gain d'activité *in vitro* du méropénème et du doripénème sur les bacilles à Gram négatif. À la différence de l'imipénème,

les nouvelles molécules ne sont pas dégradées par la déhydropeptidase-1 des tubules rénaux, et ne nécessitent donc pas l'adjonction de cilastatine (Zhanel *et al.*, 2007).

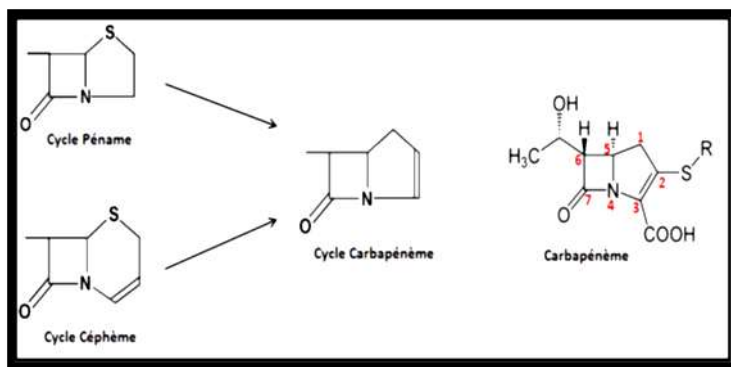


Figure 01 : Structure chimique de base des carbapénèmes (Gauzit *et al.*, 2010).

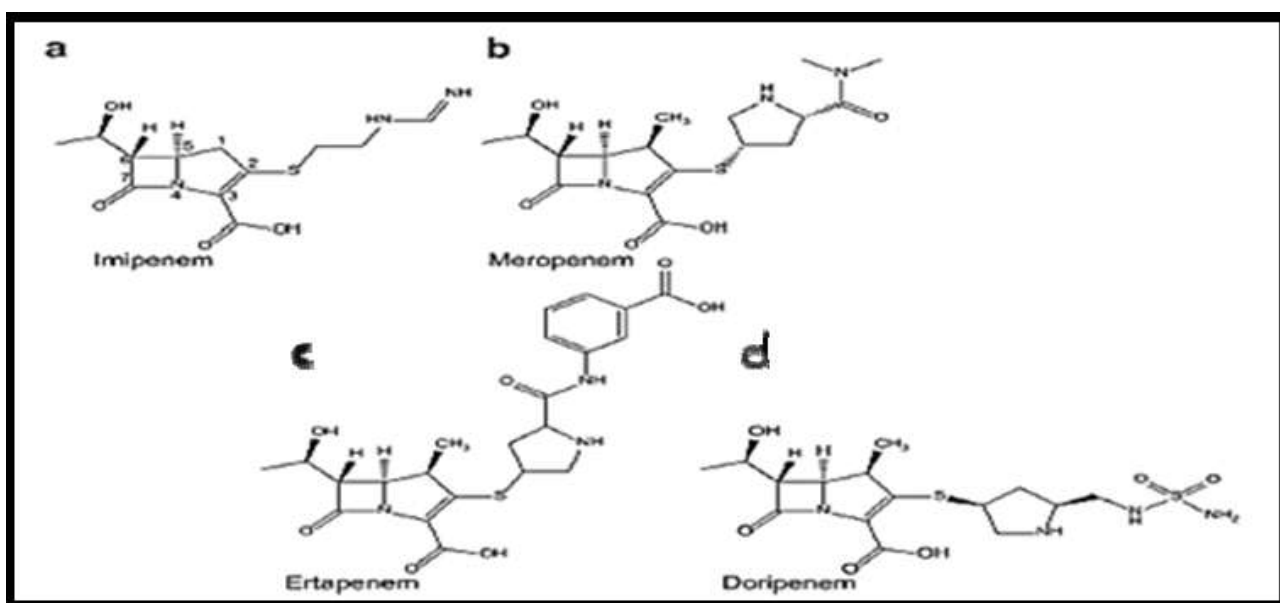


Figure 02: Structures chimiques des carbapénèmes (Jeong Ho Jeon *et al.*, 2015).

### I.3. Mode d'action

Les carbapénèmes exercent leur activité en se liant aux protéines de liaison à la pénicilline (PLP), inhibant ainsi l'étape de transpeptidation nécessaire à la synthèse du peptidoglycane. Leur affinité pour les différentes PLP varie selon les molécules, ce qui explique en partie leur différence d'activité. Ainsi, l'imipénème se lie préférentiellement à la PLP2, puis à la PLP 1a et 1b, et possède une faible affinité pour la PLP3. Le méropénème et l'ertapénème se lient fortement à la PLP2 puis à la PLP3, et ont une forte affinité pour la PLP1a et 1b. L'affinité du doripénème pour les différentes PLP dépend de l'espèce bactérienne. Ainsi, le doripénème se lie à la PLP3 de *Pseudomonas*

*aeruginosa*, aux PLP1, 2 et 4 de *Staphylococcus aureus*, et à la PLP2 d'*Escherichia coli* (Zhanet et al., 2007).

#### I.4. Spectre d'activité

Il faudra retenir une meilleure activité du méropénème, de l'ertapénème et du doripénème sur les entérobactéries, par rapport à l'imipénème. À l'inverse, l'imipénème possède une meilleure activité sur les bactéries à Gram +. Le doripénème a, pour sa part, une activité sur les bactéries à Gram + légèrement inférieure à celle de l'imipénème et meilleure que celle du méropénème et de l'ertapénème (Matthews et al., 2009). Quelques particularités sont à noter :

➤ Pour les entérobactéries sécrétrices de BLSE, le méropénème, l'ertapénème et le doripénème ont une activité supérieure à l'imipénème (Guery BP., 2009).

➤ Pour les bacilles à Gram (BGN) non fermentants comme *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp*, contrairement à l'imipénème et au méropénème, l'ertapénème présente une faible activité sur ces bactéries (Zhanet et al., 2007 ; Guery et al., 2009 ; Dalhoff et al., 2006). De plus, le méropénème et le doripénème sont actifs sur certaines souches de *Burkholderiacepacia* isolées chez les patients atteints de mucoviscidose (Cattoir, Daurel., 2010).

➤ Concernant les bactéries à Gram +, l'ertapénème a une bonne activité sur les staphylocoques sensibles à la méticilline et sur les streptocoques (excepté le pneumocoque résistant à la pénicilline), tandis qu'il est peu actif sur *Enterococcus faecalis* et inactif sur le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et sur *Enterococcus faecium*. L'activité du doripénème sur les bactéries à Gram + est légèrement inférieure à celle de l'imipénème et meilleure que celle du méropénème et de l'ertapénème (Keam SJ ; 2008). Le doripénème possède également une bonne activité sur les *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline mais est inactif sur les SARM et les entérocoques (notamment *E. faecium*). Seul l'imipénème garde une activité sur *E. faecalis*.

➤ Enfin, *Stenotrophomonas maltophilia* résiste aux carbapénèmes grâce à sa métallo- $\beta$ -lactamase. Les quatre molécules sont très actives sur l'ensemble des bactéries anaérobies à Gram + ou à Gram - (Mendes et al., 2009).

#### I.5. Mécanismes de résistance aux carbapénèmes

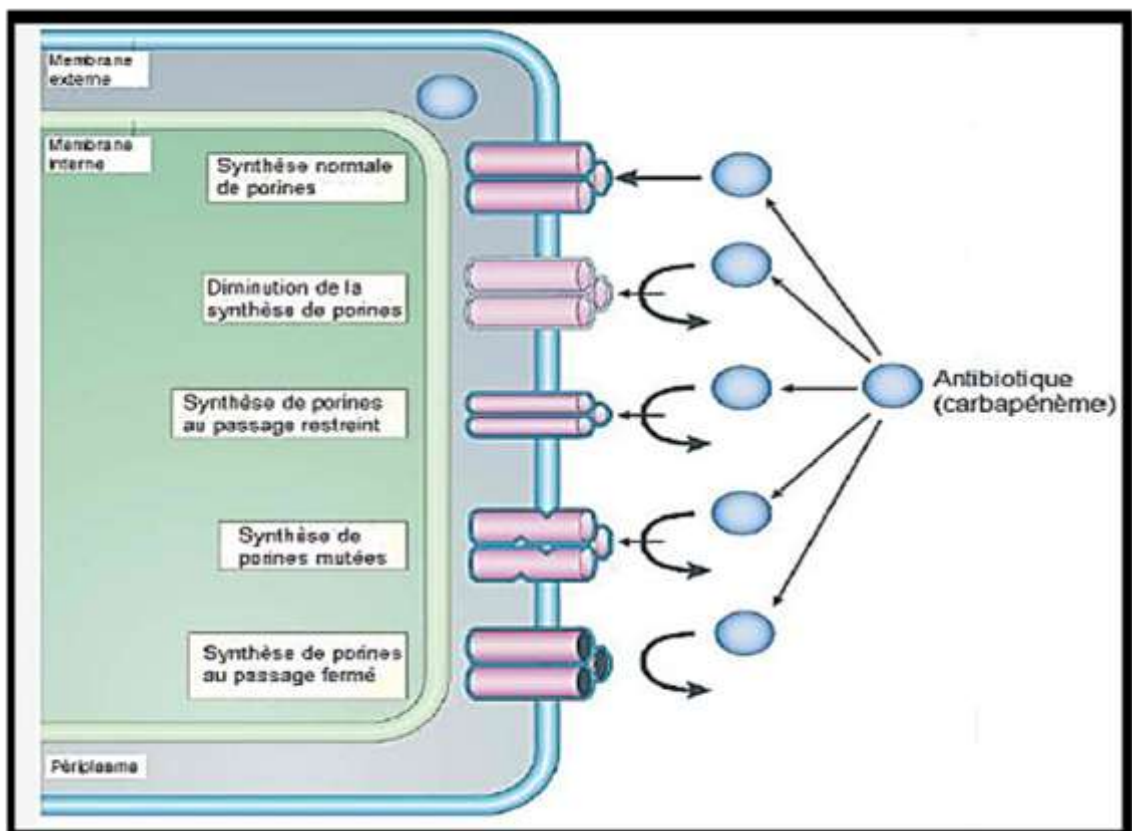
##### I.5.1. Mécanisme enzymatique : carbapénémases

Les carbapénémases appartiennent à la famille des  $\beta$ -lactamases, qui sont des enzymes bactériennes capables d'hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame, rendant l'antibiotique inactif avant qu'il n'atteigne les PLP. La parenté structurale que les  $\beta$ -lactamases partagent avec les PLP leur permet de lier, acétyler et hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame des carbapénèmes (Bush et al., 2010).

## I.5.2. Association de mécanismes

A l'heure actuelle en France, la cause la plus fréquente de résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries est due à une association de mécanismes de résistance, telle qu'une production de  $\beta$ -lactamase couplée à un déficit ou une altération de porines.

Les porines sont des protéines de la membrane externe bactérienne formant des canaux pour le passage par diffusion de molécules hydrophiles, parmi lesquelles se trouvent les antibiotiques. La sensibilité des entérobactéries aux carbapénèmes dépend en partie de la fonctionnalité de ces porines. Les porines d'entérobactéries empruntées par les antibiotiques appartiennent surtout aux familles de protéines OmpF et OmpC (Pagès *et al.*, 2008). Leur synthèse est régulée par la présence d'agents antimicrobiens dans l'environnement bactérien, avec pour conséquence une baisse significative du nombre de porines insérées dans la membrane externe (Nikaido *et al.*, 2003). Lorsqu'elles sont mutées (modifications structurales) ou diminuées en nombre, la bactérie présente une imperméabilité acquise aux carbapénèmes (Kumar *et al.*, 2005) [Figure 3].



**Figure 03** : Mécanismes d'altération des porines (Pagès *et al.*, 2008)

Ce phénotype de résistance, a priori instable et réversible (Dumith *et al.*, 2009 ; Yang *et al.*, 2012), s'observe surtout en association avec la production de  $\beta$ -lactamases, soit des céphalosporinases dérégulées AmpC, soit des BLSE. Bien que les concentrations minimales inhibitrices (CMI) aux carbapénèmes soient augmentées, les souches productrices d'enzymes à

large spectre peuvent rester sensibles aux carbapénèmes ; c'est l'association d'une altération de porines qui, très souvent les rend intermédiaires voire résistantes aux carbapénèmes, surtout à l'ertapénème (Martínez–Martínez., 2008).

Une résistance aux carbapénèmes a d'abord été observée chez des souches productrices de céphalosporinases chromosomiques dérégulées, telles que *Enterobacter* spp., *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii* et *Serratia* spp, avec des modifications des porines OmpF et OmpC (Yigit et al., 2002 ; Lavigne et al., 2012 ; Mainardi et al., 1997), puis chez des souches ayant acquis une céphalosporinase AmpC plasmidique, comme *Klebsiella pneumoniae* (avec modifications d'OmpK35/36) (Jacoby et al., 2004 ; Shin et al., 2012), *E.coli* (avec modifications d'OmpF et d'OmpC) (Chia et al ; 2009 ; Poirel et al ; 2004) et *Salmonella Typhi* (avec modifications d'OmpF) (Armand-Lefèvre et al., 2003).

De façon similaire, la production de BLSE d'origine plasmidique (CTX-M-2, SHV-2), associée à un défaut de perméabilité membranaire peut également entraîner une résistance aux carbapénèmes. Ce mécanisme a été rapporté pour l'ensemble des entérobactéries, notamment pour *K. pneumoniae* (Martínez-Martínez et al., 1999 ; Wang et al., 2009) et *E.coli* (Lartigue et al., 2007). Il est d'autant plus fréquent que la dissémination de ces enzymes est explosive depuis quelques années. Récemment, des isolats de *K. pneumoniae* producteurs de BLSE et résistants à l'ertapénème ont été décrits en Italie, avec l'imputabilité d'une nouvelle porine, OmpK36 variant (García-Fernández et al., 2010). De même, chez *Enterobacter aerogenes*, la surexpression d'une pompe à efflux, AcrA, a été identifiée comme responsable d'une résistance à l'imipénème (Bornet et al., 2003).

Contrairement aux carbapénémases, la résistance aux carbapénèmes par altération de porines n'est pas un caractère transférable. D'un point de vue épidémiologique global, elle constitue donc un phénomène moins inquiétant. Toutefois, il peut arriver qu'une imperméabilité membranaire soit couplée avec une production de carbapénémases, contribuant ainsi à augmenter le niveau de résistance aux carbapénèmes. Cette association de mécanismes est rapportée pour les oxacillinases OXA-48 (Gülmez et al., 2008), les métallo- $\beta$ -lactamases (MBLs) (Cagnacci et al., 2008 ; Loli et al., 2006) et plus rarement pour les *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase (KPC) (Landman et al., 2009) qui à elles seules présentent déjà de hauts niveaux de résistance aux carbapénèmes.

### I.5.3. Altération des protéines de liaison des pénicillines

L'altération de certaines PLP chez *Proteus mirabilis* peut être à l'origine de résistances à l'imipénème. Ce mécanisme reste toutefois rare (Neuwirth et al., 1995).

## II. Carbapénèmases

Les carbapénèmases sont des  $\beta$ -lactamases qui hydrolysent les carbapénèmes, avec une plus ou moins grande efficacité, l'hydrolyse des autres  $\beta$ -lactamines étant variable, en fonction du type d'enzyme. En présence de carbapénèmases, la résistance aux carbapénèmes est souvent majeure, avec des CMI très élevées. Ces CMI présentent une grande variabilité en fonction des enzymes produites, rendant leur détection difficile. En effet, des sensibilités apparentes sur l'antibiogramme peuvent être retrouvées chez des germes producteurs de carbapénémase (**Grall N et al ., 2011**).

### II.1. Classification

Les  $\beta$ -lactamases sont classées selon deux caractéristiques, fonctionnelles ou moléculaires.

#### II.1.1. Classification fonctionnelle

Il s'agit de l'ancienne classification des  $\beta$ -lactamases selon leurs propriétés biochimiques, les substrats d'hydrolyse et le profil d'inhibition. Elle fut proposée par Bush et coll (**Bush et al ., 2010**), et classe les  $\beta$ -lactamases en quatre groupes (1 à 4), avec de multiples sous-groupes pour le groupe 2 (voir annexe). Dans cette classification, les carbapénémases sont présentes dans les groupes 2d, 2f, et 3 (**Tableau 01**) (**Dominique De Briel ., 2015**).

#### II.1.2. Classification moléculaire

Elle fut établie par Ambler et coll (**Ambler R et al ., 1980**), et divise les  $\beta$ -lactamases en 4 classes (A à D) selon la structure primaire des enzymes. Les classes moléculaires A, C et D incluent des  $\beta$ -lactamases ayant une sérine pour site actif, tandis que la classe moléculaire B est constituée de métallo-enzymes, dont le site actif contient des ions zinc (voir annexe). Les carbapénémases constituent une famille très hétérogène, définie sur la base d'un spectre enzymatique (l'hydrolyse d'au moins un carbapénème) et non sur une base structurale. Elles sont ainsi retrouvées au sein des classes A, B et D d'Ambler (**Tableau 01**) (**Dominique De Briel ., 2015**).

**Tableau 01:** Classification des carbapénémases et spectres d'hydrolyse (Nordmann *et al.* , 2012).

Classe d'Ambler	Classe de Bush	Enzyme	Plasmide/ Chromosome	Spectre d'hydrolyse						Inhibiteur
				Pénicillines	C1G	C2G	C3G	Aztréonam	Carbapénème	
A	2f	NMC-A	Chromosome	++	++	-	+	-	++	Acide clavulanique, tazobactam, sulbactam
		IMI	Chromosome, Plasmide (IMI-2)	++	++	-	+	-	++	
		SME	Chromosome	++	++	-	+	+	+	
		GES	Plasmide	++	++	+	+	-	+	
		KPC	Plasmide	++	++	-	++	+	++	
B	3	IMP	Plasmide	++	++	++	++	-	++	EDTA
		VIM	Plasmide	++	++	++	++	-	++	
		NDM	Plasmide	++	++	++	++	-	++	
D	2d	OXA-48	Plasmide	++	++	+/-	+/-	-	+	NaCl (Acide clavulanique, tazobactam : OXA-163)
		OXA-162	Plasmide	++	++	+/-	+/-	-	+	
		OXA-163	Plasmide	++	++	+	+	-	+/-	
		OXA-181	Plasmide	++	++	+/-	+/-	-	+	
		OXA-204	Plasmide	++	++	+/-	+/-	-	+	
		OXA-232	Plasmide	++	++	+/-	+/-	-	+	

### II.1.2.1. Carbapénémases de classe A

Les carbapénémases de classe A sont assignées au groupe fonctionnel 2f : à l'instar des autres  $\beta$ -lactamases de classe A, elles contiennent une sérine en position 70 dans le site actif, hydrolysent efficacement les pénicillines et les céphalosporines, et sont inhibées par l'acide clavulanique (**Tableau 01**).

Décrites dans les années 1980, les carbapénémases de classe A ont d'abord été identifiées dans des espèces d'entérobactéries plutôt nosocomiales comme *Serratia marcescens* et *Enterobacter cloacae*. Il s'agissait des enzymes de type SME-1, IMI-2 et NMC-A, codées par des gènes chromosomiques ou plasmidiques, et décrites au décours d'épisodes sporadiques ou de petites épidémies (Walther-Rasmussen *et al.* , 2007). A l'heure actuelle, on distingue les carbapénémases de classe A chromosomiques (SME, IMI, NMCA) et celles dont le support est plasmidique (KPC, GES) (Dominique De Briel ., 2015).

- **SME (pour *Serratia marcescens* enzyme) :**

Les enzymes de type SME ont été décrites exclusivement chez *S. marcescens*. Il existe actuellement trois types : SME-1, isolé en 1982 en Angleterre (Naas *et al.* , 1994), et ses deux variants SME-2 et SME-3. Les isolats cliniques produisant ces enzymes ont été décrits aux Etats-Unis et en Angleterre uniquement : aucune expansion clonale n'a été observée (Dominique De Briel ., 2015).

- **IMI /NMC-A (pour imipenemase et non-metallo-carbapenemase-A)**

Les enzymes IMI et NMC-A ont été détectées dans de rares isolats cliniques d'*En. Cloacae* aux Etats-Unis (**Pottumarthy et al ., 2003**), en France (**Naas et al ., 2012**) et en Argentine (**Radice et al ., 2004**).NMC-A diffère d'IMI par huit acides aminés et les deux variants d'IMI (IMI-1 et IMI-2) diffèrent entre eux par deux acides aminés (**Dominique De Briel ., 2015**).

- **GES (pour Guiana extended spectrum)**

La première enzyme de type GES a été décrite en 2000 en Guyane (**Poirel et al ., 2000**), dans une souche de *K. pneumoniae*. Les gènes codant ces enzymes sont principalement localisés sur des plasmides ou des intégrons (**Queenan et al ., 2007**).Les carbapénémases de type GES (GES-2, -4, -5, -6) ont été décrites dans le monde entier de façon sporadique ou lors de petites épidémies chez *K. pneumoniae*, *E. coli* et *En. Cloacae* (**Dominique De Briel ., 2015**).

- **KPC (pour Klebsiella pneumoniae carbapénèmase)**

Parmi les carbapénémases de classe A, les enzymes de type KPC sont les plus fréquentes et donc les plus menaçantes, d'une part à cause de leur localisation plasmidique mais aussi parce que l'espèce productrice principale est *K. pneumoniae*, une bactérie largement connue pour le cumul et le transfert de gènes de résistance (**Queenan et al ., 2007**). La première souche productrice d'une KPC-1 a été identifiée en 1996 aux Etats-Unis (**Yigit et al ., 2001**); l'enzyme KPC-2 découverte par la suite, s'avéra en fait être identique à KPC-1 (KPC-1 = KPC-2). Plusieurs variants ont été décrits (de KPC-3 à KPC-15) (<http://www.lahey.org/Studies/>, 28/09/13) à travers le globe. KPC-2 et -3 sont les plus fréquemment décrites.

Bien qu'elles soient majoritaires chez *K. pneumoniae*, les enzymes KPC ont également diffusé vers d'autres espèces, comme *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter spp*, *Salmonella spp*. (**Tableau 02**) et même chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (**KE et al ., 2007**).



**Tableau 02 :** Variants et espèces d'entérobactéries produisant les principales carbapénémases acquises (Tzouveleakis *et al.* , 2012).

Type	Variants	Espèces
KPC	KPC-2 à -15	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Raoultella</i> spp.
VIM	VIM-1, -2, -4, -5, -6, -11, -12, -13, -19, -23, -24, -25, -26, -27, -32	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>C. freundii</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>Proteus mirabilis</i>
IMP	IMP-1, -3, -4, -6, -8, -11, -24, 27	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Citrobacter</i> spp., <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>M. morganii</i>
NDM	NDM-1, -4, -5, -6, -7	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>K. oxytoca</i> , <i>C. freundii</i> , <i>M. morganii</i> , <i>Providencia</i> spp.
OXA	OXA-48, -162, -163, -181, -204, -232	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>C. freundii</i> , <i>P. mirabilis</i>

Le spectre d'hydrolyse des KPC comprend toutes les  $\beta$ -lactamines (pénicillines, céphalosporines, aztréonam et imipénème), bien que les céphamycines et la ceftazidime soient de mauvais substrats. L'ertapénème, l'imipénème, le méropénème, l'aztréonam et le céfotaxime sont toutefois hydrolysés moins efficacement que les pénicillines et les céphalosporines. Les enzymes KPC sont inhibées par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases, comme l'acide clavulanique, et surtout le tazobactam (Tableau 01) (Dominique De Briel ., 2015).

#### II.1.2.2. Carbapénémases de classe B

Il s'agit des métallo- $\beta$ -lactamases (MBLs) correspondant au groupe 3 de la classification fonctionnelle de Bush (Tableau 01). Elles se distinguent des autres classes de  $\beta$ -lactamases dites à serine active, par la présence d'ions zinc dans leur site actif, essentiels pour l'attaque nucléophile du cycle  $\beta$ -lactame (Walsh *et al.* , 2005).

Malgré une grande hétérogénéité dans les séquences d'acides aminés, toutes les carbapénémases de type MBLs partagent les deux propriétés suivantes : hydrolyse des carbapénèmes (avec des niveaux de résistance variables selon le type d'enzyme), résistance aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases et inactivation *in vitro* par l'EDTA (chélation des ions  $Zn^{2+}$ ). Elles hydrolysent toutes les  $\beta$ -lactamines à l'exception de l'aztréonam (Tableau 01). Toutefois, leur association fréquente à d'autres  $\beta$ -lactamases (BLSE) étend souvent leur spectre de résistance à cette molécule (Dominique De Briel ., 2015).

Les premières MBLs ont été décrites dans des bactéries environnementales et pathogènes opportunistes : *Bacillus cereus*(BCII), *Aeromonas* spp. (CphA), *Stenotrophomonas maltophilia*

(L1), et *Bacteroides fragilis* (CcrA) (Walsh *et al.* , 2005). Les gènes sont présents naturellement sur le chromosome bactérien et sont peu transférables. Cependant, l'isolement de bactéries productrices de MBLs acquises et transférables devient de plus en plus courant : neuf types différents ont été identifiés, les plus importants étant VIM, IMP, et plus récemment, NDM (Cornaglia *et al.* , 2011). Le **tableau 02** indique les principales entérobactéries pouvant produire ces différentes enzymes.

- **IMP (pour « active on imipenem »)**

Les enzymes de type IMP, détectées pour la première fois au Japon dans les années 1980 (Watanabe *et al.* , 1991), ont été depuis rapportées partout dans le monde, dans des souches d'entérobactéries, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter* spp. Actuellement, 42 variants ont été décrits (Patel *et al.* , 2013).

- **VIM (pour « Verona integron encoded metallo- $\beta$ -lactamase »)**

VIM-1 a été isolée pour la première fois en 1997 à Vérone en Italie dans une souche de *P. aeruginosa* (Lauretti *et al.* , 1999). VIM-2 a été découverte en France en 1996 et décrite en 2000 (Poirel *et al.* , 2000). Actuellement, 37 variants composent la famille VIM (Patel *et al.* , 2013), et bien que majoritairement décrits dans des souches de *P. aeruginosa*, ils ont largement disséminés vers les entérobactéries, en particulier *K. pneumoniae*. VIM-2 aurait été jusqu'alors, la carbapénèmase la plus décrite au monde, isolée dans 23 espèces différentes à travers 40 pays (Walsh *et al.* , 2005).

- **NDM (pour « New-Delhi metallo- $\beta$ -lactamase »)**

NDM-1 est la carbapénèmase de classe B la plus récemment découverte. Elle a été décrite pour la première fois en 2009 dans une souche de *K. pneumoniae* chez un patient suédois originaire d'Inde, ayant été transféré d'un hôpital de New-Delhi (YONG *et al.* , 2009). Depuis, NDM-1 a été retrouvée dans beaucoup d'espèces différentes, principalement *K. pneumoniae* et *E. coli*, à travers tout le globe. Son importante capacité de dissémination, causant un réel problème de santé publique, lui a valu d'être largement médiatisée (Rolain *et al.* , 2010). La plupart des patients infectés ou colonisés par des bactéries productrices de NDM-1 rapportent un voyage en Inde, au Pakistan ou au Bangladesh, suggérant un réservoir sur le sous-continent indien (Nordmann *et al.* , 2011).

Les entérobactéries productrices de NDM-1 ont été incriminées dans diverses situations cliniques, en secteur hospitalier ou communautaire. Des analyses d'eaux usées et d'eau du robinet

de New Delhi ont montré la présence de l'enzyme dans plusieurs espèces de BGN, dont certaines entérobactéries (Walsh *et al.* , 2011).

Pour la plupart des souches isolées à ce jour, la production de NDM-1 est associée à celle d'autres  $\beta$ -lactamases et à des mécanismes de résistance impliquant d'autres familles d'antibiotiques (fluoroquinolones, aminosides), ne laissant que peu de recours. Une souche de *C. freundii* productrice de NDM-1 et possédant pas moins de 9 gènes de  $\beta$ -lactamases, dont 3 carbapénèmases, a récemment été rapportée chez un patient français ayant voyagé en Inde (Poirel *et al.* , 2010).

NDM-1 se distingue des autres carbapénèmases de classe B par une affinité plus forte pour certaines céphalosporines, comme la céfalotine, le céfuroxime et le céfotaxime. Cependant, NDM-1 ne se lie pas aussi étroitement aux carbapénèmes qu'IMP-1 ou VIM-2 (Nordmann *et al.* , 2011). Actuellement, dix variants de NDM ont été décrits ([www.lahey.org/Studies/](http://www.lahey.org/Studies/), 28/09/13) dans plusieurs espèces d'entérobactéries et chez *A. baumannii* (Dominique De Briel ., 2015).

#### II.1.2.3. Carbapénèmases de classe D

La classe D des  $\beta$ -lactamases, également appelée OXA pour oxacillinasés, inclut plus de 200 enzymes différentes, dont certaines ont élargi leur spectre aux carbapénèmes. Les oxacillinasés, enzymes à sérine active, sont assignées à la classe D d'Ambler et au groupe fonctionnel 2d. L'activité carbapénémase que de ces enzymes est faible. Contrairement aux autres classes, elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ou l'EDTA, mais par le chlorure de sodium (Tableau 01).

Bien que la plupart des carbapénèmases de type OXA aient été identifiées chez *Acinetobacter spp.* L'enzyme OXA-48 n'a été décrite que chez les entérobactéries (Tableau 02). Isolée pour la première fois en 2003 chez *K. pneumoniae* en Turquie (Poirel *et al.* , 2003), elle présente une efficacité catalytique dix fois supérieure aux autres OXA (Walther-Rasmussen *et al.* , 2006), tout en restant inférieure à celles des autres classes de carbapénèmases. Par ailleurs, elle n'hydrolyse quasiment pas les C3G. Les souches productrices d'OXA-48 ne présentent habituellement pas de hauts niveaux de résistance aux carbapénèmes, avec des CMI fréquemment catégorisées sensibles ou intermédiaires, ce qui rend leur détection difficile (Dominique De Briel ., 2015).

Plusieurs variants d'OXA-48 ont récemment émergé, différant d'un à cinq acides aminés (Poirel *et al.* , 2012). Isolée en Turquie chez *K. pneumoniae*, OXA-162 est un variant d'OXA-48 qui présente une efficacité catalytique supérieure vis-à-vis du méropénème, de l'imipénème et du doripénème (Kasap *et al.* , 2012). OXA-163, Isolée en Argentine chez *K. pneumoniae* et *E.*

*cloacae*, est unique du fait de son activité sur les céphalosporines à large spectre et de sa sensibilité partielle aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (**Poirel et al ., 2011**). Le variant OXA-181 a été décrit pour la première fois chez un patient transféré d'Inde au Sultanat d'Oman (**Potron et al ., 2011**); cette enzyme partage le même spectre qu'OXA-48 et elle est souvent associée à d'autres carbapénèmases (NDM-1, VIM-5), surtout lorsque les souches proviennent du sous-continent indien. Deux autres variants ont été identifiés très récemment : OXA-204, isolée d'une souche de *K.pneumoniae* en Tunisie (**Potron et al ., 2013**), et OXA-232, identifiée dans des isolats de *K. pneumoniae* en France chez des patients transférés d'Inde ou de l'île Maurice (**Potron et al ., 2013**).

*Chapitre II*  
*Matériel et Méthodes*

## **I. Matériel**

### **I.1. Appareillages**

- Autoclave 120°C.
- Balance électrique de précision.
- Etuve à 37°C.
- Microscope optique.
- Plaque chauffante.
- Agitateur.
- Réfrigérateur (-20°C à 5°C).
- pH mètre.
- Vortex.
- Automate Vitek 2 compact.

### **I.2. Verrerie et outils**

- Bêchers (1000 ml, 500 ml).
- Flacons stériles 250 ml.
- Lames.
- Pipettes graduées 20 ml, 10 ml, 1 ml.
- Pipettes Pasteur.
- Tubes à essai.
- Spatules.
- Bec Bunsen.
- Anse de platine.
- Boîtes de Pétri.
- Ecouillons.
- Pince.
- Portoirs.
- Micropipettes 1000 µl, 200 µl.
- Tubes Eppendorf de 1.5 ml.
- Cônes.

**I.3. Réactifs et autres produits**

- Colorants de Gram (Violet de Gentiane, Lugol, Fuschine).
- Ethanol 95%.
- Disques d'antibiotiques (imipénème et ertapénème).
- Eau distillée stérile.
- Eau physiologique stérile.
- Huile à immersion.
- Huile de vaseline stérile.
- Réactif de Kovacs.
- Réactif TDA (tryptophane désaminase).
- Réactifs VP1 et VP2 (Voges-Proskauer).
- Réactifs NR1 et NR2 (nitrate réductase).
- Poudre de zinc.

**I.4. Milieux de culture**

- Bouillon nutritif (BN).
- Gélose Mac Conkey (MC).
- Gélose Hecktoen.
- Gélose nutritive (GN).
- Gélose au cétrimide (GC).
- Gélose *Salmonella-Shigella* (SS).
- Gélose Mueller-Hinton (MH).

**I.5. Produits et solutions chimiques pour la réalisation du test Carba NP**

- ✓ Rouge de phénol en poudre.
- ✓ Sulfate de zinc heptahydraté ( $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ ) en poudre ;
- ✓ Imipénème + Cilastatine (poudre pour solution injectable : antibiotique à usage hospitalier) ;
- ✓ Tris (hydroxyméthyl) aminométhane chlorhydrate (Tris HCl) en poudre.
- ✓ Solution hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1 N.

## **II. Méthodes**

### **II.1. Prélèvement et isolement**

Notre travail pratique a été effectué au niveau de deux laboratoires : le laboratoire de Microbiologie à l'hôpital Bouguerra Boulaares (Bekkaria-Tebessa) et le laboratoire de microbiologie, département de biologie appliquée, faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie. La période d'étude est étalée sur 03 mois : du 5 février au 3 mai 2018.

Ce travail porte sur des échantillons de produits pathologiques (urines, sang, pus, liquide de dialyse) à visée diagnostic, prélevés des patients hospitalisés à l'hôpital Bouguerra Boulaares ou des patients externes.

La démarche des manipulations réalisées, depuis le prélèvement jusqu'aux tests phénotypiques de détection des carbapénèmases est présentée dans la figure 04.





## II.2. Identification biochimique par la galerie API20E

### II.2.1. Principe et description de la galerie

L'API 20 E est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries et autres BGN non fastidieux, comportant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

La galerie est commercialisée dans des boîtes stériles, elle comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, chaque microtube est partagé en deux parties : le tubule (en bas) et la cupule (en haut).

Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des 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 (**BioMérieux SA**).

### II.2.2. Technique

#### ➤ Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation (**BioMérieux SA**).

#### ➤ Préparation de l'inoculum

Préparer une suspension bactérienne dense dans 10 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 h sur GN.

#### ➤ Ensemencement de la galerie API 20 E

- Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles d'air :
- Pour les caractères soulignés ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE, ensemercer le tubule par la suspension et la cupule par l'huile de vaseline stérile.
- Pour les caractères encadrés VP, CIT, Gel, ensemercer le tubule et la cupule par la suspension.
- Pour les caractères non encadrés, non soulignés ensemercer uniquement le tubule par la suspension.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18 à 24 heures (**BioMérieux SA**).

#### a) Lecture de la galerie

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture voir l'annexe.

- Si trois tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

➤ **Test TDA** : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

➤ **Test IND** : ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

➤ **Test VP** : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

**Note** : le test de la recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.

Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à trois :

- Réincuber la galerie 24 heures (plus ou moins 2 heures) de plus sans rajouter les réactifs.
- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (**BioMérieux SA**).

#### b) Interprétation

L'identification a été réalisée à l'aide d'un logiciel d'identification (feuille Excel pour l'identification microbienne).

### II.3. Etude de la sensibilité aux carbapénèmes :

L'étude de la sensibilité aux carbapénèmes (l'imipénème et l'ertapénème) est réalisée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques).

#### II.3.1.Principe

La méthode des disques consiste à déposer à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne, des disques pré imprégnés d'une dose connue des différents antibiotiques. Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose à partir du disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne. La multiplication des bactéries s'arrête là où existe dans la gélose, une concentration d'antibiotique égale à la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche en seront déduits (**Delarras ., 1998**).

## II.3.2. Technique

## ➤ Préparation de l'inoculum

- Préparer une suspension bactérienne (à partir d'une culture jeune de 18 heures sur GN), prélever au moins 03 colonies et émulsionner dans 05 ml d'eau physiologique stérile.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne (**CA-SFM., 1998**).

## ➤ Ensemencement

L'ensemencement se fait par la méthode d'écouvillonnage :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et laisser s'imbiber.
- Le sortir du tube en l'essorant doucement sur la paroi.
- Ensemencer la boîte de MH dont l'épaisseur de la gélose est de 4mm, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60°C afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 minutes (**CA-SFM., 1998**).

## ➤ Application des disques et incubation

Appliquer les disques à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement. Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement. Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte, et chaque disque doit être éloigné au minimum de 30 mm des autres. Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 heures, couvercle en bas (**CA-SFM., 1998**).

## ➤ Lecture et interprétation

Pour chaque antibiotique: mesurer le diamètre de la zone d'inhibition au revers de la gélose. L'interprétation des souches (sensibles, intermédiaires ou résistantes) se fait selon les diamètres critiques recommandés par (**CA-SFM., 2018**). Chaque disque a une concentration minimale inhibitrice, caractérisée par un diamètre d'inhibition, la comparaison des diamètres mesurés autour des disques déposés et ceux recommandés permettra de détecter le phénotype sensible, intermédiaire, et résistant :

- Si le diamètre de la zone d'inhibition est  $\geq D$  : la souche est dite sensible (S).
- Si le diamètre de la zone d'inhibition est  $< d$  : la souche est dite résistante (R).
- Si  $d \leq$  diamètre de la zone d'inhibition  $< D$  : la souche est dite intermédiaire (I) (**CA-SFM., 1998**).

**Tableau 03:** Diamètres critiques des zones d'inhibition correspondant aux carbapénèmes utilisées (CA-SFM., 2018).

Antibiotique	Charge du disque	Sigle	Diamètres critiques (mm)	
			D	D
Ertapénème	10 µg	<b>ETP</b>	22	25
Imipénème	10 µg	<b>IMI</b>	16	22

## II.4. Identification et antibiogramme par VITEK 2 Compact

### II.4.1. Présentation de l'automate

Il s'agit d'un automate d'identification et d'antibiogramme. Il est conçu pour les moyens et petits laboratoires qui souhaitent disposer d'un système automatisé capable de traiter la majorité de leurs tests de routine avec un rendu de résultats rapide. VITEK 2 Compact et son logiciel Expert, AES<sup>TM</sup> offrent des avantages importants pour le biologiste, le clinicien. Il dispose d'un rapport validé le jour même, et sera alerté en cas de résistance aux antibiotiques, ce rapport permet au clinicien d'étayer son diagnostic et le cas échéant de modifier l'antibiothérapie le plus précocement possible. Le patient quant à lui, est rapidement soigné par un traitement antibiotique. La gamme VITEK 2 bénéficie d'une performance accrue en matière d'identification bactérienne grâce à la technologie «Advanced Colorimetry<sup>TM</sup>». Plus de 330 espèces microbiennes peuvent être identifiées grâce à une base de données optimisée et les nouvelles cartes d'indentification colorimétrique VITEK 2. Cette base de données couvre plus de 95% des tests de routine en microbiologie.

### II.4.2. Technique

#### ➤ Cartes Identification

- Transférer 3 ml de solution saline dans un tube (1).
- Sélectionner des colonies isolées et les mettre en suspension homogène dans la solution saline.
- Bien mélanger.
- Contrôler la densité optique de la suspension mère avec le Densi Chek Plus. Inoculum de 0,5 à 0,63 Mac Farland Pour les bactéries à Gram négatif.
- Prendre une carte Identification et la placer sur la cassette en plongeant la paille de transfert dans le tube (1) contenant la suspension mère.

#### ➤ Cartes Antibiogramme

- Transférer 3 ml de solution saline dans un tube (2).

- En utilisant les pipettes manuelles fournies avec le système, transférer de la suspension mère tube (1) vers le tube (2): pour les bactéries à Gram négatif : 145 µl du tube (1) vers le tube (2) avec la pipette manuelle rouge.
- Prendre une carte Antibiogramme et la placer sur la cassette en plongeant la paille de transfert dans le tube (2) contenant la suspension mère diluée. Refaire les étapes sus cités pour les autres échantillons avant de charger la cassette dans le Vitek 2 Compact.
- Remplissage et chargement des cartes dans le Vitek 2 Compact
  - Placer les cartes ID et/ou AST sur une cassette.
  - Imprimer la feuille de travail vierge, et noter les informations concernant la cassette (ID échantillons et code à barres des cartes).
  - Charger la cassette dans l'instrument (chambre d'inoculation) puis fermer la porte.
  - S'assurer dans l'interface utilisateur de l'instrument :
    - Lancer remplissage, prêt
    - Etat de l'instrument, OK
    - A ce moment appuyer sur le bouton « *Lancer remplissage* »
  - Un voyant lumineux indique au bout de 70 secondes que le cycle de remplissage est terminé.
  - Retirer la cassette de la chambre d'inoculation puis ouvrir la porte du lecteur-incubateur, placer la cassette à l'intérieur (*dans un délai maximum de 10 minutes*) puis refermer la porte.
  - Un voyant lumineux indique que le chargement des cartes est terminé.
  - Retirer la cassette vide du lecteur-incubateur.
  - L'instrument lit les codes à barres des cartes et de la cassette, et envoie automatiquement les informations au logiciel.
- Saisie des informations des échantillons
  - Dans l'écran principal, clic sur l'icône gestion des cassettes.
  - Les cassettes en attente d'informations « *à compléter* » apparaissent en rouge dans l'arborescence à gauche de l'écran.
  - Chercher la cassette qui vient d'être chargée (cassette en rouge) et compléter les informations manquantes à partir de la feuille de travail vierge (numéro d'identification du laboratoire et le nom du germe pour les cartes antibiogramme).
  - Enregistrer les informations saisies

## II.5. Détection de la production de carbapénèmases par le test carba NP

### II.5.1. Définition

Le Carba NP test est une méthode biochimique de détection des carbapénèmases développée par Nordmann et son équipe. Ce test met en évidence l'acidification du milieu grâce à un indicateur coloré lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. L'indicateur coloré, le rouge de phénol, vire au jaune lors de l'hydrolyse de l'imipénème par production d'acide et donc diminution du pH [Figure 05].

Ce test a été évalué au CNR (Centre national de référence), à partir de plus de 4000 souches de sensibilité diminuée aux carbapénèmes (Dortet *et al.*, 2013). Le Carba NP est un test rapide (de 30 à 120 mn), il ne nécessite qu'un matériel peu coûteux et ne requiert pas de personnel spécialisé. Il est sensible et spécifique (100%). L'un de ses avantages est de mettre en évidence la production de n'importe quel type de carbapénèmases (classes A, B, ou D) (Cuzon *et al.*, 2012).

Ce test est actuellement recommandé en première ligne pour le dépistage de l'activité carbapénémase par le CLSI (Clinical & laboratory standards institute) aux États-Unis (Decousser *et al.*, 2017).

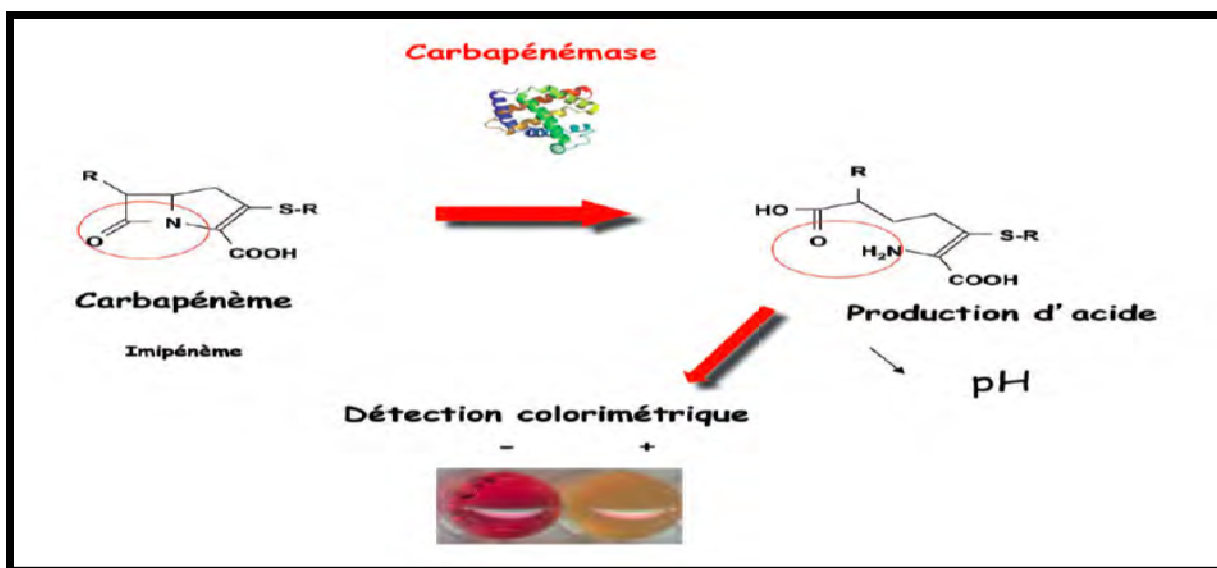


Figure 05: Principe du Carba NP test (Nordmann ; Poirel., 2014).

### II.5.2. Principe

Le test Carba NP est basé sur la mise en évidence d'une acidification du milieu en cas d'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. L'indicateur de pH change de couleur (du rouge au jaune) lorsque le milieu devient acide, traduisant la présence d'une carbapénémase [figure 05].

### II.5.3. Technique

#### a) Préparation de la solution A

La solution A (solution contenant l'indicateur de pH) est préparée comme suit :

- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume.
- Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
- Ajuster le pH à 7.8 en ajoutant, goutte à goutte d'une solution de NaOH (1 N).
- Ajouter 180 µl d'une solution de ZnSO<sub>4</sub> 10 mM pour obtenir une concentration finale de ZnSO<sub>4</sub> à 0.1 mM.

La Solution A est stable à température ambiante pendant 1 semaine et peut être conservée pendant plusieurs mois à -20°C. La solution A + imipénème (6 mg/ml) doit impérativement être préparée extemporanément.

#### b) Protocole

- Ajouter 100 µl du tampon de lyse Tris-HCl 20 mM dans 2 tubes Eppendorf de 1.5 ml.
- Bien resuspendre une 1/2 öse calibrée (10 µl) de colonies bactériennes dans chacun des deux tubes contenant le tampon de lyse (les colonies bactériennes peuvent être obtenues directement à partir d'un antibiogramme prélevées autour du disque de Carbapénème).
- Vérifier que les bactéries ont bien été remises en suspension. Si nécessaire, mélanger par Pipetage (de haut en bas) ou par vortex pour bien dissocier les colonies bactériennes dans le tampon de lyse.
- Pour chaque souche à tester, ajouter (i) 100 µl de Solution A dans le premier tube eppendorff puis (ii) 100 µl de Solution A + imipénème 6 mg/ml dans le second tube eppendorff.
- Incuber à 37°C pendant un maximum de 2 h.
- Lecture visuelle de la couleur de chaque tube.

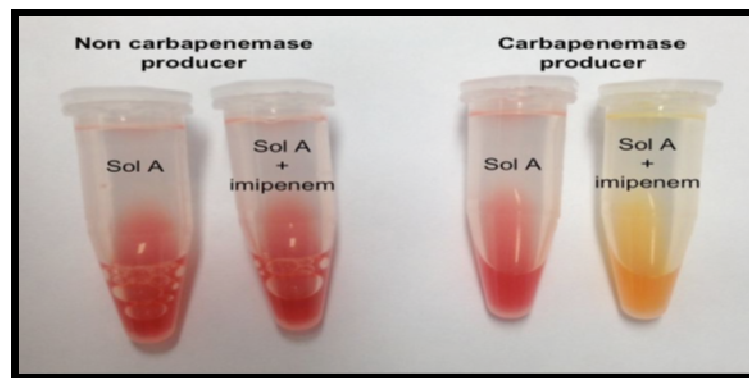


## c) Interprétation

L'interprétation des résultats se fait selon le tableau 04.

**Tableau 04 :** Tableau d'interprétation des résultats du Carba NP Test

Tube 1 (sans imipénème)	Tube 2 (plus imipénème)	Interprétation
Rouge	Rouge	Pas de carbapénèmase
Rouge	Orange/Jaune	Carbapénèmase
Jaune	Jaune	Non interprétable



**Figure 06 :** Les résultats de carba NP test (résultat positif à droite et résultat négatif à gauche).

## II.6. Test de Hodge modifié

### II.6.1. Principe

Ce test permet la mise en évidence d'une synergie d'activité enzymatique entre souches productrices de carbapénèmase (souche à tester) et souches sauvages de référence sensible (**Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ., 2014**).

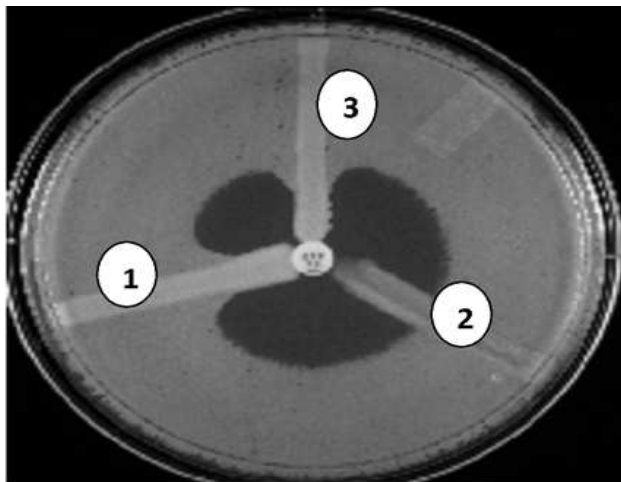
### II.6.2. Technique

- Préparer une suspension bactérienne d'*E.coli* ATCC 25922 dans 5 ml d'eau physiologique.
- Ensemencer une gélose MH par écouvillonnage, laisser sécher 3 à 5 mn.
- Déposer au centre un disque d'imipénème 10 µg.
- A partir du disque, faire une inoculation en trait avec la souche à tester et avec deux souches de référence (*K.pneumoniae* ATCC BAA-1705 : Carbapénèmase positive) et *K.pneumoniae* ATCC BAA-1706 : Carbapénèmase négative).
- Incuber à 35°C ±2°C pendant 16 à 24 heures.

## II.6.3. Interprétation

-Un test de Hodge modifié est positif quand *Escherichia coli* ATCC 25922 au contact d'une souche productrice de carbapénèmase, va croître dans le diamètre d'inhibition en donnant un aspect d'invagination de la culture [Figure 07].

-Un test de Hodge modifié est négatif quand il n'y a aucune modification du diamètre d'inhibition d'*Escherichia coli* ATCC 25922 au contact des souches à étudier (**Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ., 2014**).



1: *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 (témoin positif) ; 2: *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 (témoin négatif) ; 3: Souche testée. La déformation du diamètre à l'intersection entre une strie et la culture de *E. coli* ATCC 25922 signe la présence d'une hydrolyse des carbapénèmes par la souche testée. La souche testée (n°3) produit une carbapénèmase.

**Figure 07 : Test Hodge modifié (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ., 2014)**

## II.6.4. Avantages

- Peu coûteux
- Bonne détection des souches productrices de carbapénèmase de type OXA-48 et KPC.

## II.6.5. Inconvénients

- **Faux négatifs** : essentiellement les souches produisant une carbapénèmase de type **NDM**.
- **Faux positifs** : essentiellement *Enterobacter* spp. Sur exprimant leur céphalosporinase naturelle (**Girlich et al ., 2012**).
- Nécessite un délai de 24 h à 48 h après obtention de l'antibiogramme incompatible avec une identification rapide des carbapénèmases.

*Chapitre III:*  
*Résultats et discussion*

### I. Examen macroscopique

Durant notre période d'étude, 344 échantillons de produits pathologiques ont été prélevés dans le laboratoire de Microbiologie à l'hôpital Bouguerra Boulaares de Bekkaria. Seulement 144 échantillons ont donné des cultures. Quelques photos des cultures obtenues sur les milieux GC et MC sont présentés dans [Figure 08].



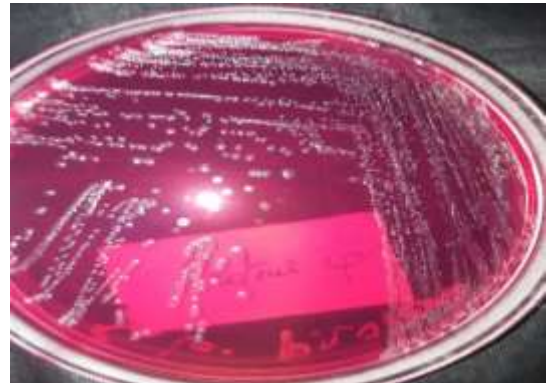
Culture sur GC



Culture sur MC



Culture sur MC



Culture sur MC



Culture sur MC

Figure 08 : Quelques aspects cultureux obtenus sur GC et MC

## **II. Examen microscopique**

Parmi 144 échantillons, seulement 82 échantillons ont donné des cultures de BGN. Alors que 62 échantillons ont donné des cocci à Gram positif et des levures. Après coloration de Gram, l'observation microscopique a montré des BGN courts ou moyens, isolés ou regroupés en paires ou en courtes chainettes, et des coccobacilles isolés ou regroupés en paires.

## **III. Identification biochimique**

59 isolats ont été identifiés par la galerie miniaturisée API20 E, et seulement 23 isolats ont été identifiés par le système Vitek. Les résultats de l'identification ainsi réalisée sont présentés dans le tableau 05. Il faut signaler que deux isolats ont été éliminés de notre collection, car leur identification a été imprécise, il s'agit des isolats 70 et 72. Donc les résultats qui suivent seront exprimés par rapport à 80 souches de BGN.

Tableau 05 : Résultats de l'identification par Api20E et Vitek

N° d'isolat	Api 20 <sup>E</sup>	Vitek
01		<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>
02		<i>Acinetobacter baumannii</i>
03		<i>Enterobacter cloacae</i> spp <i>cloacae</i>
04		<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>
05	<i>Serratia odorifera</i> 1	
06		<i>Escherichia coli</i>
07		<i>Escherichia coli</i>
08		<i>Escherichia coli</i>
09		<i>Morganella morganii</i> spp <i>morganii</i>
10		<i>Proteus mirabilis</i>
11		<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>
12	<i>Enterobacter cloacae</i>	
13	<i>Serratia odorifera</i> 1	
14		<i>Salmonella Typhi</i>
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
16	<i>Serratia odorifera</i> 1	
17	<i>Serratia odorifera</i> 1	
18		<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>
19		<i>Escherichia coli</i>
20		<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>
21		<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>
22	<i>Enterobacter gergoviae</i>	
23	<i>Serratia marcescens</i>	
24		<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>
25		<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>
26		<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>
27	<i>Serratia marcescens</i>	
28	<i>Serratia odorifera</i> 1	
29	<i>Enterobacter cloacae</i>	

Suite du Tableau 05

N° d'isolat	Api 20 <sup>E</sup>	Vitek
30	<i>Serratia marcescens</i>	
31		<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>
32	<i>Serratia marcescens</i>	
33	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
34	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
35	<i>Serratia marcescens</i>	
36	<i>Serratia marcescens</i>	
37	<i>Serratia odorifera</i> I	
38	<i>Serratia marcescens</i>	
39	<i>Proteus mirabilis</i>	
40	<i>Serratia marcescens</i>	
41	<i>Enterobacter cloacae</i>	
42	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
43	<i>Serratia odorifera</i> I	
44	<i>Kluyvera</i> spp	
45		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
46		<i>Escherichia coli</i>
47	<i>Serratia odorifera</i> I	
48	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>	
49	<i>Escherichia coli</i>	
50	<i>Serratia liquefaciens</i>	
51	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
52	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
53	<i>Serratia odorifera</i> I	
54	<i>Enterobacter cloacae</i>	
55	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
56	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
57	<i>Serratia marcescens</i>	
58		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
59		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
60	<i>Escherichia coli</i>	

<b>61</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>	
<b>62</b>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
<b>63</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>	
<b>64</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>	
<b>65</b>	<i>Kluyvera spp</i>	
<b>66</b>	<i>Enterobacter sakazakii</i>	
<b>67</b>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
<b>68</b>	<i>Serratia liquefaciens</i>	
<b>69</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>	
<b>70</b>	Identification imprécise	
<b>71</b>	<i>Enterobacter cloacae</i>	
<b>72</b>	Identification imprécise	
<b>73</b>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
<b>74</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>	
<b>75</b>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
<b>76</b>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
<b>77</b>	<i>Serratia marcescens</i>	
<b>78</b>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
<b>79</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>	
<b>80</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>	
<b>81</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>	
<b>82</b>	<i>Escherichia coli 1</i>	

Quelques API 20E représentatives des différentes espèces identifiées sont présentées dans les figures de 09 à 21.





Figure 09: Photographie de l'Api 20E de la souche 23 (*Serratia marscescens*).



Figure10: Photographie de l'Api 20E de la souche 13 (*Serratia odorifera*).



Figure11: Photographie de l'Api 20E de la souche 68 (*Serratia liquefaciens*).

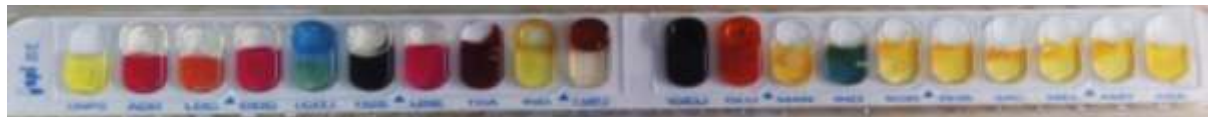


Figure12: Photographie de l'Api 20E de la souche 29(*Enterobacter cloacae*).



Figure13: Photographie de l'Api 20E de la souche 52 (*Enterobacter aerogenes*).



Figure14: Photographie de l'Api 20E de la souche 22 (*Enterobacter gergoviae*).



Figure15: Photographie de l'Api 20E de la souche 66 (*Enterobacter Sakazakii*).



Figure16: Photographie de l'Api 20E de la souche 49 (*Escherichia coli*).



Figure17: Photographie de l'Api 20E de la souche 33 (*Klebsiella ornithinolytica*).



Figure18: Photographie de l'Api 20E de la souche 48 (*Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae*)



**Figure19:** Photographie de l'Api 20E de la souche 39 (*Proteus mirabilis*).



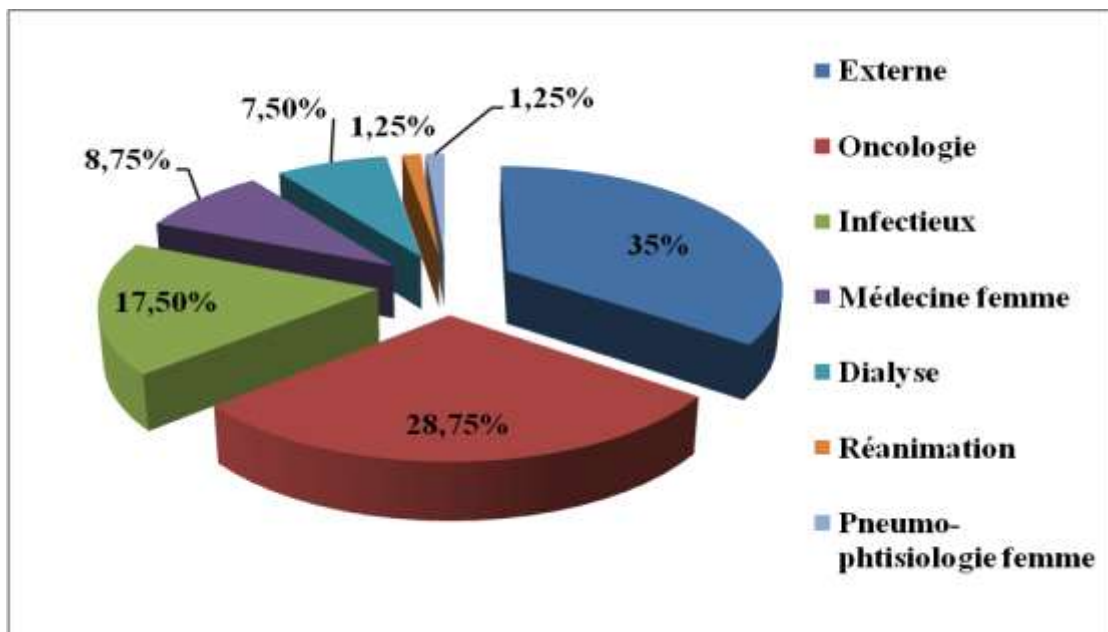
**Figure20:** Photographie de l'Api 20E de la souche 44 (*Kluyvera spp*).



**Figure21 :** Photographie de l'Api 20E de la souche 15 (*Pseudomonas aeruginosa*).

#### IV. Répartition des souches en fonction des services

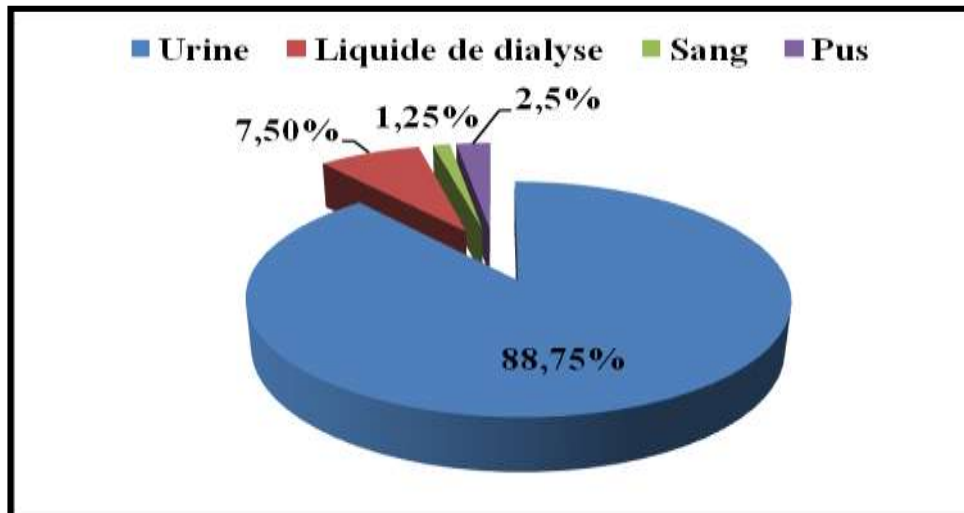
Les résultats ont montré que la majorité des souches ont été isolées chez les patients externes avec un pourcentage de 35 %, les patients hospitalisés en oncologie avec un taux de 28,75% et ceux du service infectieux (17,5%). Les autres services ont présenté des taux moindres [Figure 22].



**Figure 22:** Répartition des souches en fonction des services.

#### V. Répartition des souches selon le type de prélèvement

La plupart des souches cliniques étudiées dans notre travail ont été isolées des urines (88,75%), le reste des souches étant isolées du liquide de dialyse (7,5 %), du pus (2,5%) et du sang (1,25%) [Figure23].



**Figure 23:** Répartition des souches en fonction du type de prélèvement.

Dans notre travail, 69 souches d'entérobactéries ont été isolées des urines (**Tableau 06**), présentant 86,25% parmi la totalité des souches. *Serratia odorifera* était le plus fréquemment isolé (23,18%), suivi de *K. pneumoniae* (18,84%), *K. ornithinolytica* (14,49%), *Serratia marcescens* et *E.coli* (11,59% chacun), *Enterobacter cloacae* (7,24%). Ces résultats diffèrent en partie de ceux rapportés dans une étude de Nahed et al (2016) faite sur 120 isolats d'Enterobacteriaceae, où *E. coli* était l'isolat urinaire le plus commun (48,4%), suivi de *K. pneumoniae* présentant un pourcentage (18,3%) très proche de celui trouvé dans notre étude.

Tableau 06 : Distribution des entérobactéries isolées des urines en fonction de l'espèce

Espèce bactérienne	Nombre de souches	Pourcentage
<i>Serratia odorifera</i>	16	23,18%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	18,84%
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	10	14,49%
<i>Serratia marcescens</i>	08	11,59
<i>E.coli</i>	8	11,59
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	7,24
<i>Enterobacter gergoviae</i>	1	1,44
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	1,44
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1,44
<i>Serratia liquefaciens</i>	2	2,89
<i>Kluyvera spp</i>	2	2,89
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1,44
<i>Morganella morganii</i>	1	1,44
<b>Total</b>	69	100 %

## VI. Répartition des souches en fonction du genre

Les souches identifiées appartiennent à deux groupes de BGN : 97,5% des souches appartiennent au groupe des entérobactéries et 2,5% des souches sont des BGN non fermentaires (*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*). Les différents genres d'entérobactéries par ordre de fréquence sont: *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Proteus*, *Kluyvera*, *Salmonella* et *Morganella* [Figure 24].

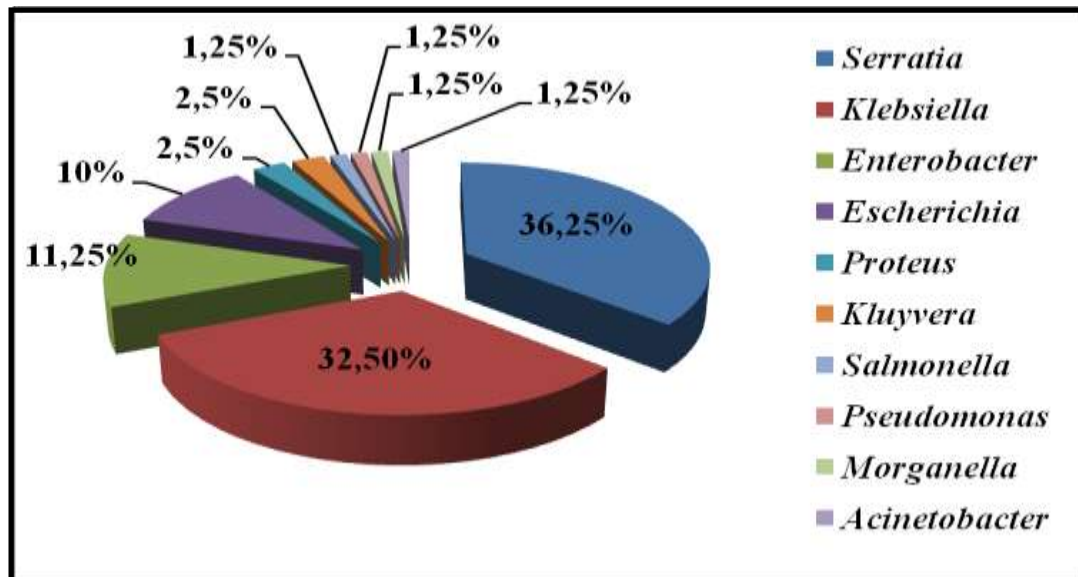


Figure 24 : Répartition des souches en fonction du genre.

### VII. Répartition des souches en fonction des espèces

Dans notre travail, les souches isolées appartiennent à 16 espèces différentes dont *Serratia odorifera* (21,25%), *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* (17,5%) et *Klebsiella ornithinolytica* (15%) ont présenté les espèces les plus fréquemment isolées. Ces bactéries sont des agents pathogènes nosocomiaux, ce qui justifie leur abondance dans les prélèvements cliniques. *Serratia marscescens*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae ssp cloacae* ont présenté des taux moindres (Tableau 07).

Les espèces isolées dans notre étude sont retrouvées en pathologies humaines dont l'origine communautaire ou nosocomiale. Elles peuvent être responsables de différentes pathologies (infections urinaires et pulmonaires, infections et surinfections cutanées, septicémies, ...).

Tableau 07 : Distribution des souches selon les espèces.

Genre	Espèce bactérienne	Effectif	Pourcentage
<b><i>Klebsiella</i></b>	<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>	14	17,5 %
	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	12	15%
<b><i>Enterobacter</i></b>	<i>Enterobacter cloacae ssp cloacae</i>	06	7,50%
	<i>Enterobacter gergoviae</i>	01	1,25%
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	01	1,25%
	<i>Enterobacter sakazakii</i>	01	1,25%
<b><i>Serratia</i></b>	<i>Serratia odorifera 1</i>	17	21,25%
	<i>Serratia marcescens</i>	10	12,5%
	<i>Serratia liquefaciens</i>	02	2,50%
<b><i>Escherichia</i></b>	<i>Escherichia coli</i>	08	10%
<b><i>Proteus</i></b>	<i>Proteus mirabilis</i>	02	2,50%
<b><i>Kluyvera</i></b>	<i>Kluyvera spp</i>	02	2,50%
<b><i>Salmonella</i></b>	<i>Salmonella enterica sérotype Typhi</i>	01	1,25%
<b><i>Morganella</i></b>	<i>Morganella morganii ssp morganii</i>	01	1,25%
<b><i>Pseudomonas</i></b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	01	1,25%
<b><i>Acinetobacter</i></b>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	01	1,25%
<b>Total</b>	/	80	100%

Dans la présente étude, les Entérobactéries représentaient 97.5% des souches, dont *Serratia odorifera* et *K. pneumoniae* étaient les deux espèces les plus communes, suivies des espèces : *K.ornithinolytica*, *S.marcescens* et *E.coli*. Ces résultats diffèrent de ceux rapportés dans une étude de Abd El –Mongy (2013), dont *E. coli* et *K. pneumoniae* étaient les deux espèces les plus fréquentes, suivies des espèces : *Enterobacter spp.* et *K. oxytoca*.

*Enterobacter cloacae* est devenu un agent pathogène opportuniste important chez les patients hospitalisés, en particulier chez les nouveau-nés ( **Gbaguidi-Haore et al., 2008**). Selon le rapport d'enquête sur la Surveillance et le Contrôle des Pathogènes d'Importance Epidémiologique (SCOPE) des Etats-Unis, *Enterobacter spp.* (principalement *E. cloacae*) représentaient 3,9% de toutes les bactériémies nosocomiales se classant au huitième rang parmi tous les micro-organismes causant une bactériémie (**Wang et al ., 2009**). Le taux de mortalité causée par *Enterobacter spp.*

varie de 15 à 87% par an dans le monde entier (**Wagenlehner et al ., 2002**). La pathogénicité d'*E. cloacae* a été augmentée en raison de la résistance intrinsèque à l'ampicilline et aux céphalosporines à spectre étroit et de la fréquence élevée de mutation vers la résistance aux céphalosporines à spectre étendu et aux carbapénèmes. Il possède également différents types de  $\beta$ -lactamases incluant des métallob- $\beta$ -lactamases (**Lee et al ., 2008**) .

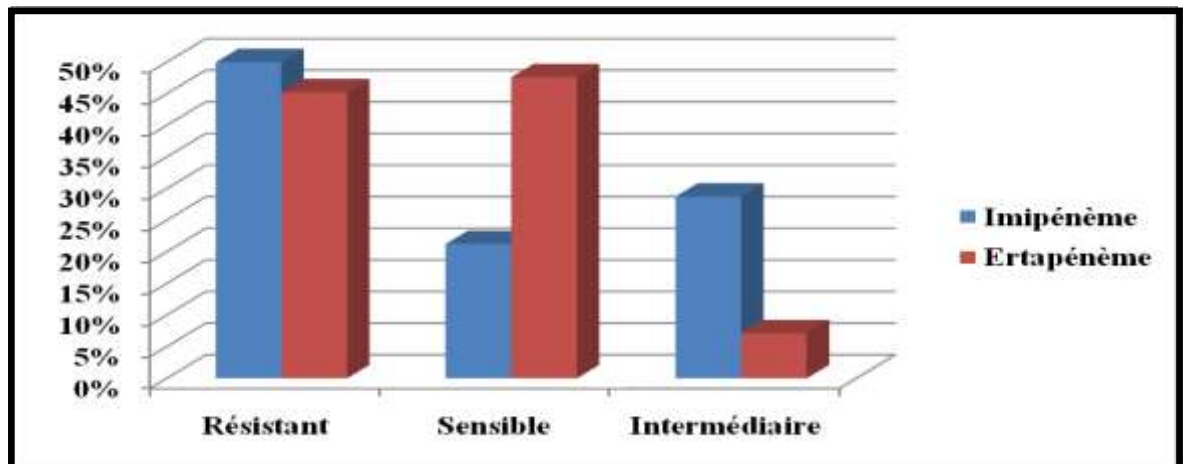
Pour *Escherichia coli*, il s'agit d'une bactérie intestinale qui assure un équilibre sain en maintenant la flore intestinale et qui est indispensable à la production de certaines vitamines. Lorsque ces bactéries plutôt bénéfiques se fixent ailleurs dans le corps, par exemple dans la vessie, elles peuvent provoquer dans certains cas une inflammation de la vessie. Chez les personnes très affaiblies, ces bactéries peuvent entraîner des infections plus graves, par exemple des bactériémies (**Comité sur les infections nosocomiales du Québec ., 2010 (CINQ)**).

*Acinetobacter.spp* se retrouve dans l'environnement, et peut également se retrouver dans l'eau potable. Il a la capacité de survivre sur les surfaces sèches inanimées pour de longues périodes. L'environnement peut donc constituer un réservoir. On peut parfois le retrouver sur la peau des patients et du personnel. La transmission d'*Acinetobacter* se fait majoritairement via les mains du personnel soignant ainsi que par le matériel ou l'environnement contaminé. Il a pour site de prédilection le poumon et le tractus gastro-intestinal et le plus souvent responsable d'infections pulmonaires ou de bactériémies, en particulier chez les patients aux soins intensifs (**Comité sur les infections nosocomiales du Québec ., 2010 (CINQ)**).

L'espèce *Pseudomonas aeruginosa* est un agent pathogène opportuniste important qui cause des infections chez les patients ayant un système immunitaire affaibli, ainsi que les patients aux soins intensifs et les brûlés. Ces bactéries ont une haute résistance à un large éventail d'antimicrobiens et d'antibiotiques existants (**Comité sur les infections nosocomiales du Québec ., 2010 (CINQ)**).

### VIII. Sensibilité aux carbapénèmes

Les résultats du test de sensibilité aux carbapénèmes ont permis de répartir les souches isolées dans les trois catégories : résistant, sensible et intermédiaire [**Figure 25**].



**Figure 25:** Taux de résistance et de sensibilité aux Carbapénèmes

Concernant l'imipénème, 40 souches (50%) étaient résistantes, 23 souches (28.75%) étaient intermédiaires et 17 souches (21.25%) étaient sensibles. Pour l'ertapénème, seulement 42 souches ont été testées, parmi lesquelles, 19 (45.24%) étaient résistantes, 20 (47.62%) étaient sensibles et 03 (7.14%) étaient intermédiaires. Ces résultats sont très proches de ceux rapportés par **Nahed et al .**, (2016), dont la résistance à l'ertapénème était de 42,5%, et de 45% pour l'imipénème. **El Kazzaz et Abou El khier (2013)** ont également trouvé que 47% des isolats cliniques de pathogènes à Gram négatif obtenus à partir de patients admis à l'hôpital universitaire de Mansoura, étaient résistants à l'imipénème. Dans une étude turque (**Zerrin et al., 2012**), des isolats cliniques d' *E. coli* et de *K.pneumoniae* ont été résistants à l'ertapénème

Le taux des ERC dans notre travail est élevé, ceci pourrait s'expliquer par l'utilisation continue de carbapénèmes dans le traitement en raison de la forte prévalence des souches productrices de BLSE (**Nahed et al ., 2016** )

### IX. Test Carba NP

Les résultats du test Carba NP réalisé ont montré que parmi 80 souches testées, 11 souches se sont révélées productrices de carbapénémases (**Tableau 08**).

**Tableau 08 :** Résultats du test Carba NP

Résultats	Positif	Négatif	Non interprétable	Total
<b>Nombre de souches</b>	11	46	23	80
<b>Pourcentage</b>	13,75%	57,50%	28,75%	100%

Quelques photos de test Carba NP correspondant aux différentes interprétations sont présentées dans [la figure 26].



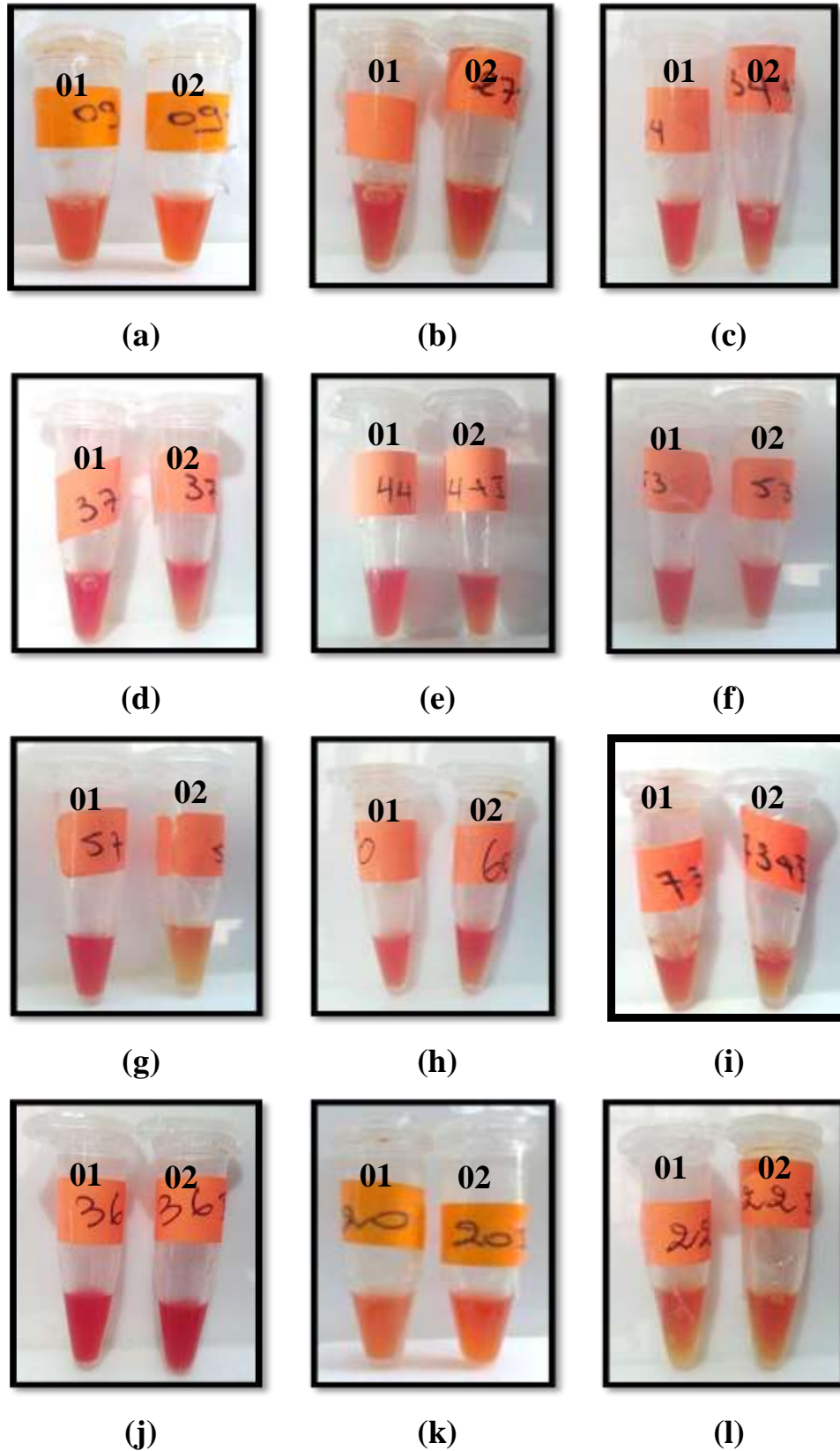


Figure 27 : Résultats de test carba NP.

1 : Solution A; 2 : Solution A + imipénème; (a)-(i) : tests Carba NP positifs; (j) : Carba NP négatif; (k), (l) : Résultats non interprétables;

Dans la présente étude, le taux des souches productrices de carbapénèmases est de 13,75%. Ce résultat est inférieur à celui apporté dans une étude égyptienne (**Girgis et al ., 2015**) et qui était 24,07%. Dans une étude sénégalaise la prévalence globale des EPC était de 5,1% (62/1205) et les espèces les plus prévalentes étaient *E. coli* (45,2%), *K. pneumoniae* (27,4%) et *En. cloacae* (16,1%) particulièrement isolé de l'urine (58%) et du pus (19,3%) (**Camara et al ., 2017**).

Dans notre travail, toutes les souches productrices de carbapénèmases sont des entérobactéries, elles appartiennent aux espèces : *Serratia odorifera* (3 souches), *Serratia marcescens* (2 souches), *Klebsiella ornithinolytica* (2 souches), *E.coli*, *Morganella morganii*, *Salmonella Typhi* et *Kluyvera sp* (**Tableau 09**). Dans une autre étude (**Zaira et al., 2015**) *K. pneumoniae* et *E. coli* ont été rapportées comme productrices de carbapénèmases.

**Tableau 09** : Description des souches productrices de carbapénèmases

Service	N° de souche	Espèce	Type de prélèvement	Traitement en cours
<b>Oncologie</b>	37	<i>Serratia odorifera</i>	Urines	Chimiothérapie
	60	<i>E.coli</i>	Urines	Chimiothérapie
	64	<i>Serratia odorifera</i>	Urines	Chimiothérapie
<b>Externe</b>	09	<i>Morganella morganii</i>	Urines	gentamicine
	34	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	Urines	Bactrim Flagyl
	53	<i>Serratia odorifera</i>	Urines	Bactrim Gentamicine
	57	<i>Serratia marcescens</i>	Urines	Cefacidal Gentamicine
	73	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	Urines	Cefizox
<b>Infectieux</b>	14	<i>Salmonella Typhi</i>	Sang	Augmentin Bactrim
<b>Médecine femme</b>	27	<i>Serratia marcescens</i>	Urines	Cefacidal
<b>Réanimation</b>	44	<i>Kluyvera spp</i>	Urines	Cefacidal Gentamicine

La plupart (10/11) des EPC détectées dans notre étude proviennent des urines sauf la souche 14 isolée du sang. Parmi 11 souches, 6 souches proviennent des services hébergeant des patients affaiblis, il s'agit des services : oncologie, infectieux et réanimation. Dans une étude similaire, des EPC ont été détectées dans le service d'oncologie à partir des urines (**Sacha et al ., 2012**).

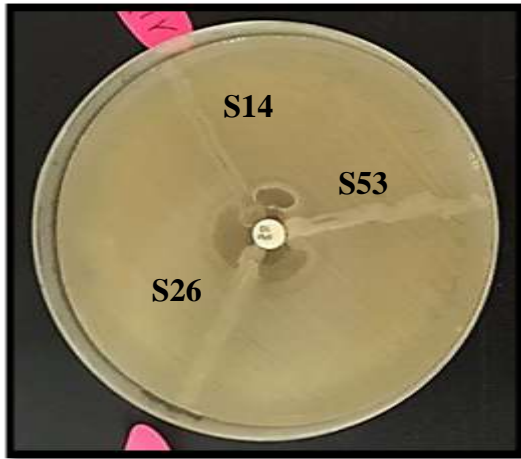
Il a été rapporté que les patients à risques pouvant être colonisés par des EPC sont les immunodéprimés, les greffés, les patients hospitalisés en unités de soins intensifs, mais également les patients transférés d'hôpitaux étrangers ou ayant été hospitalisés à l'étranger dans l'année précédente (**Dortet et al ., 2013**). En effet, parmi les EPC révélées dans le présent travail, trois souches (37, 60, et 64) ont été isolées des patients immunodéprimés (cancéreux) soumis à la chimiothérapie. En plus, une souche EPC (44) a été isolée chez un patient en réanimation et une autre souche (14) a été isolée d'un patient présentant une septicémie à *Salmonella Typhi*.

D'autres facteurs de risque ont également été rapportés : une hospitalisation prolongée, la mise en place de matériel étranger et la prise antérieure d'antibiotiques ( $\beta$ -lactamines mais également fluoroquinolones) (**Bratu et al ., 2005 ; Hussein et al., 2009**). Ainsi, une antibiothérapie par des  $\beta$ - lactamines a été notée pour 5 patients correspondants aux souches EPC (57, 73, 14, 27 et 44). Les antibiotiques en question sont : cefacidal (cefazoline : céphalosporine première génération), cefizox (ceftizoxime : C3G) et l'Augmentin (l'association amoxicilline-acide clavulanique).

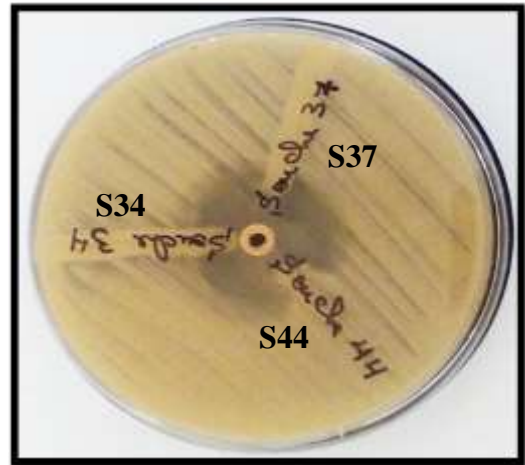
## X. Test Hodge modifié

Le test Hodge modifié était positif pour 7 souches et négatif pour 4 souches (34, 37, 60, 73). Des photos du test Hodge sont présentées dans **[figure 27]**.

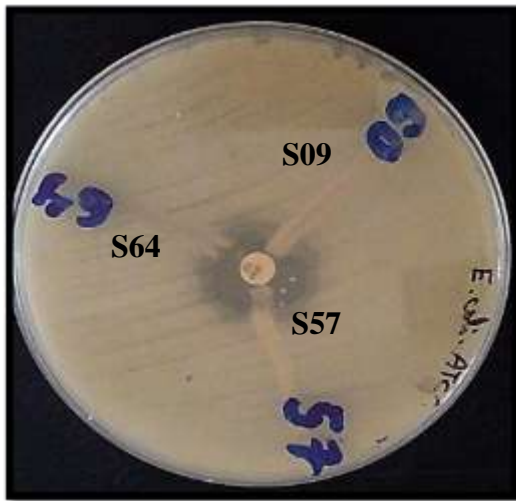
Ces résultats montrent que ce test manque de sensibilité, puisqu'il était négatif pour de souches carba NP positives. En effet, dans une étude très récente de Datta *et al* (2017) faite dans l'objectif de comparer les deux méthodes de détection, il a été conclu que le test Hodge modifié peut ne pas être un test de dépistage utile pour la détection des carbapénèmases car de nombreux isolats producteurs de MBL n'ont pas pu être détectés par ce test. Par contre, le test carba NP a montré une grande sensibilité.



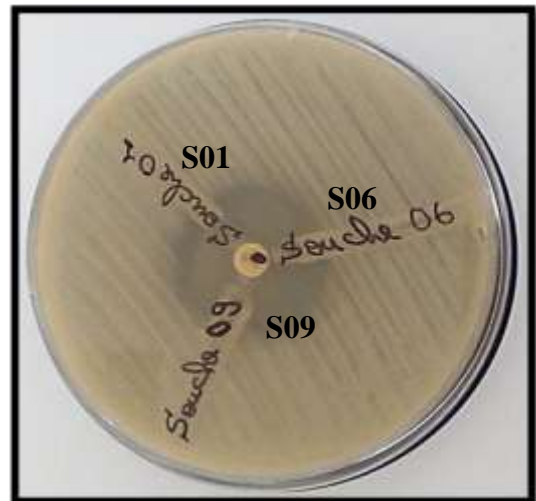
Souches (+) : 14,53



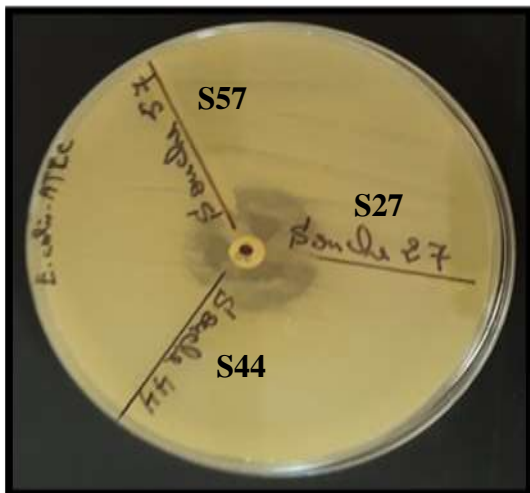
Souche (+) : 44



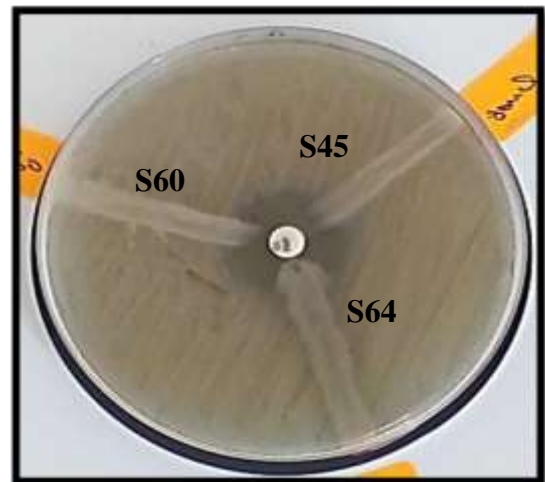
Souches (+) : 9, 57, 64



Souche (+) : 9



Souches (+) : 27,57,44



Souches (+) : 60, 64

Figure 28 : Résultats du test Hodge modifié

# *Conclusion et Perspectives*

## Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail était la recherche de l'activité des carbapénèmases chez des souches cliniques de BGN isolées à l'hôpital Bouguerra Boulaares de Bekkaria.

Au cours de cette étude, on a identifié 80 isolats de bacilles à Gram négatif, dont 88,75% provient des urines. 97,5% des souches appartiennent aux entérobactéries, présentées principalement par les espèces : *Serratia odorifera* (21,25%), *Klebsiella pneumoniae* (17,5%) et *Klebsiella ornithinolytica* (15%) suivies de *Serratia marcescens* (12,5%), *Escherichia coli* (10%), *Enterobacter cloacae* (7,50%). Alors que *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et autres entérobactéries ont présenté des fréquences très faibles.

L'étude de la sensibilité aux carbapénèmes a montré des taux de résistance élevés à l'imipénème (50%) et à l'ertapénème (45.24%). Le test Carba NP nous a permis de détecter la production de carbapénèmases chez 11 souches, présentant un taux de 13,75%. Les espèces productrices sont : *Serratia odorifera*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Salmonella Typhi*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* et *Kluyvera.spp*. Le test de Hodge modifié a été positif pour 7/ 11 souches Carba NP positives.

Notre étude montre des taux élevés de résistance aux carbapénèmes testées et en particulier, elle a permis la détection des carbapénèmases à un pourcentage non négligeable chez des souches cliniques de BGN. Ces résultats reflètent une situation alarmante liée à l'émergence de souches productrices de carbapénèmases pour lesquelles l'arsenal thérapeutique reste très limité. Ce phénomène épidémique est particulièrement inquiétant par la rapidité de sa diffusion et son étendue géographique. Face à cette situation, il faut agir précocement et appliquer des mesures de contrôle efficaces : prescription prudente d'antibiotiques et prévention de la diffusion à partir des patients porteurs des EPC par dépistage en cours d'hospitalisation. La surveillance et le contrôle de la résistance aux carbapénèmes doivent être systématiquement évalués dans tous les milieux hospitaliers.

En perspectives, nos résultats restent préliminaires et méritent d'être exploités et complétés par :

- L'identification moléculaire par PCR du type de carbapénémase.
- Le séquençage des gènes codant les carbapénèmases.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

- 1) **Abd El –Mongy M, Reyad A** (2013). Sensitivity of urinary tract bacteria to certain antibiotics, Egypt. J Exp Biol; 9:213–218. .
- 2) **Ambler R.P** (1980).The structure of beta-lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci*; 289, 321-331.
- 3) **Arlet.G , A.Philippon** (2003).Les nouvelles B-lactamases à laube du troisième millénaire.Rev Fr.des Lab.,352 :41-54.
- 4) **Armand-Lefèvre L; Leflon-Guibout V; Bredin J; Barguelli F; Amor A; Pagès J.M; Nicolas-Chanoine M.-H** (2003). Imipenem resistance in *Salmonella entericaserovar* Wien related to porin loss and CMY-4 beta-lactamase production. *Antimicrob. Agents Chemother*; 47, 1165-1168.
- 5) **Ayper Somer<sup>3</sup>, Nuran Salman<sup>3</sup> and Ali Emin Aydin<sup>4</sup>** (2012).Carbapenem resistance in Turkey: Repeat report on OXA-48 in *Klebsiella pneumoniae* and first report on IMP-1 beta-lactamase in *Escherichia coli*; African Journal of Microbiology Research Vol. 6(17), pp. 3874-3878, <http://www.academicjournals.org/AJMR> .
- 6) **Bio Mérieux**
- 7) **Bornet C; Chollet R; Malléa M; Chevalier J; Davin-Regli A; Pagès J.-M; Bollet C** (2003). .Imipenem and expression of multidrug efflux pump in *Enterobacteraerogenes*. *Biochem.Biophys. Res. Commun*; 301, 985-990.
- 8) **Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, et al** (2005). Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New-York City. *Arch Intern Med*;165:1430–5
- 9) **Bush K; Jacoby G.A** (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*; 54, 969-976.
- 10) **Cagnacci S; Gualco L; Roveta S; Mannelli S; Borgianni L; Docquier J.-D; Dodi F; Centanaro M; Debbia E; Marchese A; Rossolini G.M**( 2008). Bloodstream infections caused by multidrug-resistant *Klebsiellapneumoniae*producing the carbapenem-hydrolysing VIM-1 metallo-beta-lactamase: first Italian outbreak. *J. Antimicrob. Chemother*; 61, 296-300.
- 11) **Camara M, Mane MT, Ba-Diallo A et al .,** (2017). Extended-spectrum beta-lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae clinical isolates in a Senegalese teaching hospital: A cross sectional study. 13 November, Vol. 11(44), pp. 1600-1605. <http://www.academicjournals.org/AJMR>.



- 12) **CA-SFM**. Antibiogramme en diffusion. Recommandations techniques et Guide d'interprétation. Communiqué du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (1998). *Sanofi Diagnostics Pasteur*, 12p.
- 13) **Cattoir V, Daurel C** (2010). Update on antimicrobial chemotherapy. *Med Mal Infect* .40:135-54. 30.
- 14) **Centre national de recherche**. Détection biochimique rapide de l'activité carbapénémase des entérobactéries
- 15) **Chang-Ro Lee, Byeong Chul Jeong and Sang Hee Lee** (2015). Structural Basis for Carbapenem-Hydrolyzing Mechanisms of Carbapenemases Conferring Antibiotic Resistance, *Int. J. Mol. Sci.* 16, 9654-9692.
- 16) **Chia J.H; Siu L.K; Su L.H; Lin H.S; Kuo A.J; Lee M.H; Wu T.L** (2009). Emergence of carbapenem-resistant *Escherichia coli* in Taiwan: resistance due to combined CMY-2 production and porin deficiency. *J. Chemother. Florence Italy*, 21, 621-626.
- 17) **Cornaglia G** (2010). New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1): towards a new pandemic-*Clin.Microbiol.Infect*; 16, 1699–1701.
- 18) **Cornaglia G; Giamarellou H; Rossolini G.M** ( 2011). Metallo-β-lactamases: a last frontier for β-lactams? *Lancet Infect. Dis*; 11, 381-393.
- 19) **Cuzon G, Naas T, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P** (2012).Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum β-lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM). *J Antimicrob Chemother*; 67(8):1865-9 ; (<http://www.cnrrésistance-antibiotiques.fr/expertise-des-souches-1.html>).
- 20) **Dalhoff A, Janjic N, Echols R** (2006). *Redefining penems. BiochemPharmacol*.71:1085-95.
- 21) **Datta S, Dey R, Dey JB, Ghosh S** (2017). A Comparative Study of Modified Hodge Test and Carba NP Test for Detecting Carbapenemase Production in Gram-negative Bacteria. *Medical Journal of Dr. D.Y.* Volume 10, Issue 4, July-August, 365- 369.
- 22) **Decousser J-W, Poirel L, Nordmann P** (2017) .Recent advances in biochemical and molecular diagnostics for the rapid detection of antibiotic-resistant Enterobacteriaceae : a focus on β-lactam resistance. *Expert Rev Mol Diagn*; 3 avr .17(4):327- 50.
- 23) **Delarras C** (1998). Microbiologie. 90 heures de Travaux pratiques. *Gaëtan Morin, France*, 276p.

- 24) **Dominique De Briel** (2015). Détection des carbapénémases par SM-Maladi-Tof ; June . DOI: 10.13140/RG.2.1.2243.1843, <https://www.researchgate.net/publication/279201264>.
- 25) **Dominique De Briel** (2015). La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes. Etude prospective aux Hôpitaux Civils de Colmar du dépistage avec un milieu sélectif et intérêt de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour le criblage. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Strasbourg. L'Université de Strasbourg .June. 162 p.
- 26) **Dortet L, Agathine A, Naas T, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P**(2015).Evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP, the Rapid CARB Screen® and the Carba NP test for biochemical detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.*; nov .70(11):3014\* 22.
- 27) **Dortet L, Poirel L, Nordmann P** (2013). Epidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénémases. *Feuill Biol*; 312.
- 28) **Doumith M; Ellington M.J; Livermore D.M; Woodford N** (2009). Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. clinical isolates from the UK. *J. Antimicrob. Chemother*; 63, 659-667.
- 29) **El-Kazzaz S, Abou El-khier N** (2015). AmpC and metallo beta-lactamases producing Gram negative bacteria in patients with hematological malignancy. *Afr J Microbiol Res*; 9:1247–1254.
- 30) **European committee on Antimicrobial Susceptibility Testing** (Février 2018) . Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations..V.1.0.
- 31) **García-Fernández A; Miriagou V; Papagiannitsis C.C; Giordano A; Venditti M; Mancini C; Carattoli A** ( 2010 ). An ertapenem-resistant extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* clone carries a novel OmpK36 porin variant. *Antimicrob. Agents Chemother*; 54, 4178-418455.
- 32) **Gauzit R; Gutmann L; Brun-Buisson C; Jarlier V; Fantin B** (2010). Recommandations de bon usage des carbapénèmes. *Antibiotiques*, 12, 183-189.
- 33) **Gbaguidi-Haore H, Talon D, Thouvez M, Menget A, Bertrand X** (2008). Molecular epidemiology of *Enterobacter cloacae* in a neonatal department: a 2-year surveillance study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 27(8):643-648.
- 34) **Girgis S, Othman H, Kassem N, Abdou S** (2015). Evaluation of boronic acid disk for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Curr Microbiol App Sci*; 4:772–783.

- 35) Grall N; Andremont A; Armand-Lefèvre L** (2011). Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse? *Journal des Antinfectieux*, doi:10.1016/j.antinf.2011.03.005.
- 36) Guery BP** (2009). Doripenem: need for a new carbapenem. *Med Mal Infect* 39:871-6.
- 37) Gülmez D; Woodford N; Palepou M.-F.I; Mushtaq S; Metan G; Yakupogullari Y; Kocagoz S; Uzun O; Hascelik G; Livermore D.M** (2008). Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiellapneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 31, 523-526; les métallo- $\beta$ -lactamases(MBLs).
- 38) Hawkey P.M. and Livermore D.M** (2012). Carbapenem antibiotics for serious infections. *BJM*; 344: e3236.
- 39) Heritage, J., F. H. M'Zali, D. Gascoyne-Binzi, and P. M. Hawkey** (1999). Evolution and spread of SHV extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother*, 44 : 309-18.
- 40) Hussein K, Sprecher H, Mashiach T, Oren I, Kassis I, Finkelstein R** (2009). Carbapenem resistance among *Klebsiella pneumoniae* isolates: risk factors, molecular characteristics, and susceptibility patterns. *Infect Control Hosp Epidemiol*; 30:666–71.
- 41) Jacoby G.A; Mills D.M; Chow N** (2004). Role of beta-lactamases and porins in resistance to ertapenem and other beta-lactams in *Klebsiellapneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother*; 48, 3203-3206.
- 42) Jeong Ho Jeon †, Jung Hun Lee †, Jae Jin Lee, Kwang Seung Park, Asad Mustafa Karim, Jones RN, Sader HS, Fritsche TR** (2005). Comparative activity of doripenem and three other carbapenems tested against Gram-negative bacilli with various beta-lactamase resistance mechanisms. *Diagn Microbiol Infect Dis* .52:71-4.
- 43) Kasap M; Torol S; Kolayli F; Dundar D; Vahaboglu H** (2012). OXA-162, a novel variant of OXA-48 displays extended hydrolytic activity towards imipenem, meropenem and doripenem. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem*.
- 44) Ke W; Bethel C.R; Thomson J.M; Bonomo R.A; Van Den Akker F** (2007). Crystal structure of KPC-2. *Biochemistry (Mosc.)*, 46, 5732-5740.
- 45) Keam SJ** (2008). Doripenem: a review of its use in the treatment of bacterial infections. *Drugs*. 68:2021-57.
- 46) Kumar A; Schweizer H.P** (2005). Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Adv. Drug Deliv.Rev*; 57, 1486-1513.

- 47) **Landman D; Bratu S; Quale J** (2009). Contribution of OmpK36 to carbapenem susceptibility in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J. Med. Microbiol*; 58, 1303-1308.
- 48) **Lartigue M.-F; Poirel L; Poyart C; Réglie-Poupet H; Nordmann P** (2007). Ertapenem resistance of *Escherichia coli*. *Emerg. Infect. Dis*; 13, 315-317.
- 49) **Lauretti L; Riccio M.L; Mazzariol A; Cornaglia G; Amicosante G; Fontana R; Rossolini G.M.C** (1999). Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother*; 43, 1584-1590.
- 50) **Lavigne J.-P; Sotto A; Nicolas-Chanoine M.-H; Bouziges N; Bourg G; Davin-Regli A; Pagès J.-M** (2012). Membrane permeability, a pivotal function involved in antibiotic resistance and virulence in *Enterobacter aerogenes* clinical isolates. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis*; 18, 539-545.
- 51) **Lee MF, Peng CF, Hsu HJ, Chen YH** (2008). Molecular characterisation of the metallo-beta-lactamase genes in imipenem-resistant Gram-negative bacteria from a university hospital in southern Taiwan. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 32(6):475-480.
- 52) **Lepelletier D, Batard E, Berthelot P, Zahar J-R, Lucet J-C, Fournier S, et al** (2015). Maîtrise de la diffusion des entérobactéries productrices de carbapénémases : épidémiologie, stratégies de prévention et enjeux. Juin.
- 53) **Loli A; Tzouveleki L.S; Tzelepi E; Carattoli A; Vatopoulos A.C; Tassios P.T; Miriagou V** (2006). Sources of diversity of carbapenem resistance levels in *Klebsiella pneumoniae* carrying blaVIM-1. *J. Antimicrob. Chemother*; 58, 669-672.
- 54) **Mainardi J.L; Mugnier P; Coutrot A; Buu-Hoï A; Collatz E; Gutmann L** (1997). Carbapenem resistance in a clinical isolate of *Citrobacter freundii*. *Antimicrob. Agents Chemother*; 41, 2352 – 2354.
- 55) **Martínez-Martínez L** (2008). Extended-spectrum beta-lactamases and the permeability barrier. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis*; 14 Suppl 1, 82-89.
- 56) **Martínez-Martínez L; Pascual A; Hernández-Allés S; Alvarez-Díaz D; Suárez A.I; Tran J; Benedí V.J; Jacoby G.A** (1999). Roles of beta-lactamases and porins in activities of carbapenems and cephalosporins against *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother*; 43, 1669-1673.
- 57) **Mascaretti O.A** (2003). Bacteria versus antibacterial agents; an integrated approach. ASM press, 420 pages.

- 58) Matthews SJ, Lancaster JW** (2009). Doripenem monohydrate, a broad-spectrum carbapenem antibiotic. *Clin Ther.* 31:42-63.
- 59) Mendes RE, Bell JM, Turnidge JD, Castanheira M, Jones RN** (2009). Emergence and widespread dissemination of OXA-23, -24/40 and -58 carbapenemases among *Acinetobacter* spp. in Asia-Pacific nations: report from the SENTRY Surveillance Program. *J Antimicrob Chemother.*63:55-9.
- 60) Naas T; Cattoen C; Bernusset S; Cuzon G; Nordmann P** ( 2012). First Identification of bla<sub>IMI-1</sub> in an *Enterobacter cloacae* Clinical Isolate from France. *Antimicrob. Agents Chemother.*; 56, 1664-1665.
- 61) Naas T; Vandell L; Sougakoff W; Livermore D.M; Nordmann P** (1994). Cloning and sequence analysis of the gene for a carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, Sme-1, from *Serratiamarcescens* S6. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38, 1262-1270.
- 62) Nahed A. Elraghya, Wafaa A. Zahrana, Amal F. Makleda, Hatem M. El-Sebaeyb, Ghada R. El Hendawya, Nahla A. Melakea, Elham Awadc, Amira H. El-Khayata** (2015). Multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* nosocomial uropathogens at Menoufia University Hospitals: phenotypic characterization and detection of resistance genes using real-time PCR. *Menoufia Medical Journal* 2016 Number 4, 01 October. Volume 29, 29:855–861, <http://www.mmj.eg.net> on Saturday, April 28, 2018, IP: 105.105.114.152].
- 63) Neuwirth C; Siébor E; Duez J.M; Péchinot A; Kazmierczak A** (1995). Imipenem resistance in clinical isolates of *Proteus mirabilis* associated with alterations in penicillin-binding proteins. *J. Antimicrob. Chemother.*36, 335-342.
- 64) Nikaido H** (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev. Mmbr*, 67, 593-656.
- 65) Nordmann P, Poirel L** (2014). Résistances aux antibiotiques émergentes et importantes chez les bactéries Gram négatif: épidémiologie, aspects théoriques et détection. *Mal Infect*: 427(16):902–907.
- 66) Nordmann P; Dortet L; Poirel L** (2012). Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! *Trends Mol. Med*; 18, 263-272.
- 67) Nordmann P; Poirel L; Walsh T.R; LIVERMORE D.M** (2011). The emerging NDM carbapenemases. *Trends Microbiol*; 19, 588-595157.

- 68) Pagès J.-M; James C.E; Winterhalter M** (2008). The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nat. Rev. Microbiol*; 6, 893-903.
- 69) Palacios-Baena ZR, Oteo J, Conejo C et al.,** (2016). Comprehensive clinical and epidemiological assessment of colonisation and infection due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Spain. *Journal of Infection*, 72, 152e160. [www.elsevierhealth.com/journals/jinf](http://www.elsevierhealth.com/journals/jinf).
- 70) Papp-Wallace K. M; Endimiani A; Taracila M.A; and Bonomo R.A** (2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*; 55 : 4943-4960.
- 71) Patel G; Bonomo R. A** (2013). “Stormy waters ahead”: global emergence of carbapenemases. *Front. Microbiol*; 4: 1-17.
- 72) Paweł T. Sacha, Dominika Ojdana, Piotr Wieczorek<sup>1</sup>, Wioletta Kłosowska, Małgorzata Krawczyk, Sławomir Czaban, Elżbieta Oldak and Elżbieta Tryniszewska** (2012). Genetic similarity and antimicrobial susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* – producing carbapenemase (KPC-2) isolated in different clinical specimens received from University Hospitals in Northeastern .
- 73) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing** (2014). Twenty first. Informational Supplement .*CLSI*. M100-S24. Vol 34. N°1.
- 74) Poirel L; Castanheira M; Carrër A; Rodriguez C.P; Jones R.N; Smayevsky J; Nordmann P** (2011 ). OXA-163, an OXA-48-related class D  $\beta$ -lactamase with extended activity toward expanded-spectrum cephalosporins. *Antimicrob. Agents Chemother*; 55, 2546-2551.
- 75) Poirel L; Héritier C; Spicq C; Nordmann P** ( 2004). In vivo acquisition of high-level resistance to imipenem in *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol*; 42, 3831-3833.
- 76) Poirel L; Heritier C; Tolun V; Nordmann P** (2003). Emergence of Oxacillinase-Mediated Resistance to Imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother* (2003), 48, 15-22.
- 77) Poirel L; LE thomas I; Naas T; Karim A; Nordmann P** (2000). Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother*; 44, 622-632.
- 78) Poirel L; Naas T; Nicolas D; Collet L; Bellais S; Cavallo J.D; Nordmann P** ( 2000). Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its

plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrob. Agents Chemother*; 44, 891-897.

- 79) Poirel L; Potron A; Nordmann P** (2012). OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J. Antimicrob. Chemother*; 67, 1597-1606. Poland; African Journal of Microbiology Research, vol :68-92p,27 October, Available online at <http://www.academicjournals.org/ajmr>.
- 80) Poirel L; Ros A; Carricajo A; Berthelot P; Pozzetto B; Bernabeu S; Nordmann P** (2010).Extremely Drug-Resistant *Citrobacter freundii* iIsolate Producing NDM-1 and Other Carbapenemases Identified in a Patient Returning from India. *Antimicrob. Agents Chemother*; 55, 447-448.
- 81) Poirel. L, Dortet. L, Nordmann .P** (2013). Diagnostic des carbapénémases : détection et caractérisation ; *Diagnostic of carbapenemases: detection and characterisation* La Lettre de l'Infectiologue . Tome XXVIII - no 4 - juillet-août . pg 128-131 <https://www.researchgate.net/publication/257947404>.
- 82) Potron A; Nordmann P; Lafeuille E; Al Maskari Z; Al Rashdi F; Poirel L**( 2011). Characterization of OXA-181, a carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother*; 55, 4896-4899.
- 83) Potron A; Nordmann P; Poirel L** (2013).Characterization of OXA-204, a carbapenem-hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase from *Klebsiellapneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother*; 57, 633-636.
- 84) Potron A; Rondinaud E; Poirel L; Belmonte O; Boyer S; Camiade S; Nordmann P** (2013).Genetic and biochemical characterisation of OXA-232, a carbapenem-hydrolysing class D  $\beta$ -lactamase from *Enterobacteriaceae*. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 41, 325-329.
- 85) Pottumarthy S; Moland E.S; Juretschko S; Swanzy S.R; Thomson K.S; Fritsche T.R** (2003). Nmc A Carbapenem-hydrolyzing Enzyme in *Enterobacter cloacae* in North America1. *Emerg. Infect. Dis*.
- 86) Queenan A.M; Bush K** (2007). Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin.Microbiol. Rev*; 20, 440-458.
- 87) Radice M; Power P; Gutkind G; Fernandez K; Vay C; Famiglietti A; Ricover N; Ayala J.A** (2004 ). First Class A Carbapenemase Isolated from *Enterobacteriaceae*in Argentina. *Antimicrob. Agents Chemother*; 48, 1068-1069.

- 88) Rasmussen BA, Bush K, Keeney D, Yang Y, Hare R, O'Gara C, Medeiros AA** (1996). Characterizations of IMI-1  $\beta$ -lactamase, a novel class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40(9):2080-2086.
- 89) Rodloff AC, Goldstein EJ, Torres A** (2006). Two decades of imipenem therapy. *J. Antimicrob. Chemother.* 58(5):916-929.
- 90) Shin S.Y; Bae I.K; Kim J; Jeong S.H; Yong D; Kim J.M; Lee K** (2012). Resistance to carbapenems in sequence type 11 *Klebsiellapneumoniae* related to DHA-1 and loss of OmpK35 and/or OmpK36. *J. Med. Microbiol;* 61, 239-245.
- 91) Spencer BA, Richard III JW, McCoy LF, Carino E, Washington J, Edgar P, Rosenblatt J, Goodheart R** (2002). Antibiotic activity of meropenem on multi-resistant gram-negative organisms. *J. Burns Surg.* 23(1):12-17.
- 92) Tzouveleakis L.S; Markogiannakis A; Psychogiou M; Tassios P.T; Daikos G.L** ( 2012). Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clin.Microbiol.Rev;* 25, 682-707.
- 93) Wagenlehner FM, MacKenzie FM, Forbes KJ, Gould IM** (2002). Molecular epidemiology and antibiotic resistance of *Enterobacter* spp. from three distinct populations in Grampian, UK. *Int. J. Antimicrob. Agents* 20(6):419-425
- 94) Walsh T.R; Toleman M.A; Poirel L; Nordmann P** (2005). Metallo-  $\beta$  -Lactamases: the Quiet before the Storm. *Clin. Microbiol. Rev;* 18, 306-325.
- 95) Walsh T.R; Weeks J; Livermore D.M; Toleman M.A** ( 2011). Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect. Dis;* 11, 355-362.
- 96) Walther-Rasmussen J; Høiby N** ( 2006). OXA-type carbapenemases. *J. Antimicrob. Chemother;* 57, 373-383.
- 97) Walther-Rasmussen J; Høiby N** ( 2007). Class A carbapenemases. *J. Antimicrob. Chemother;* 60, 470-482.
- 98) Wang R, Wu S, Li X, He P, Liu Y** (2009). Detection of AmpC  $\beta$ -lactamase and drug resistance of *Enterobacter cloacae*. *Front. Med. China* 3(1):72-75.
- 99) Wang X.D; Cai J.C; Zhou H.W; Zhang R; Chen G.-X** (2009). Reduced susceptibility to carbapenems in *Klebsiellapneumoniae* clinical isolates associated with plasmid-mediated beta-lactamase production and OmpK36 porin deficiency. *J. Med. Microbiol;* 58, 1196-1202.



- 100) Watanabe M; Iyobe S; Inoue M; Mitsuhashi S** (1991). Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35, 147-151.
- 101) Yang F.-C; Yan J.-J; Hung K.-H; Wu J.-J** (2012). Characterization of ertapenem-resistant *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese university hospital. *J. Clin. Microbiol.*; 50, 223-226.
- 102) Yigit H; Anderson G.J; Biddle J.W; Steward C.D; Rasheed J.K; Valera L.L; Mcgowan J.E. Jr, Tenover F.C** (2002). Carbapenem resistance in a clinical isolate of *Enterobacter aerogenes* associated with decreased expression of OmpF and OmpC porin analogs. *Antimicrob. Agents Chemother.*; 46, 3817-3822.
- 103) Yigit H; Queenan A.M; Anderson G.J; Domenech-Sanchez A; Biddle J.W; Steward C.D; Alberti S; Bush K; Tenover F.C** (2001). Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*; 45, 1151-1161.
- 104) Yong D; Toleman M.A; Giske C.G; Cho H.S; Sundman K; Lee K; Walsh T.R** (2009). Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla (NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob. Agents Chemother.*; 53, 5046-5054.
- 105) Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ, Noreddin AM, Karlowsky JA** (2007). Comparative review of the carbapenems. *Drugs* 67(7):1027-1052.

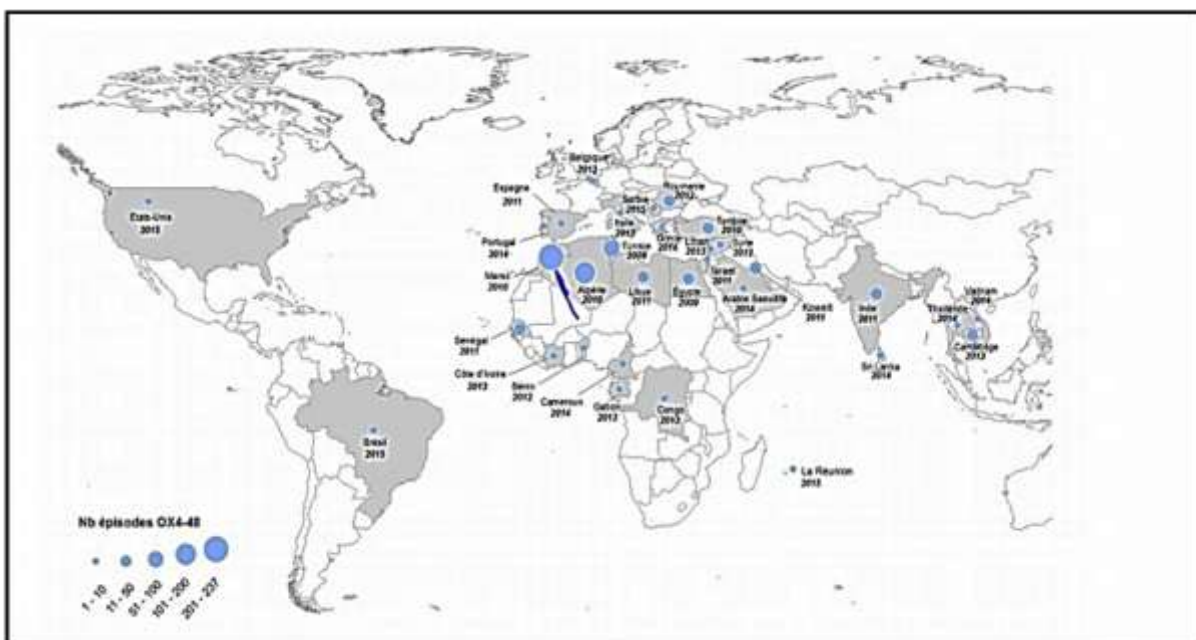
*Annexe*

## Annexe

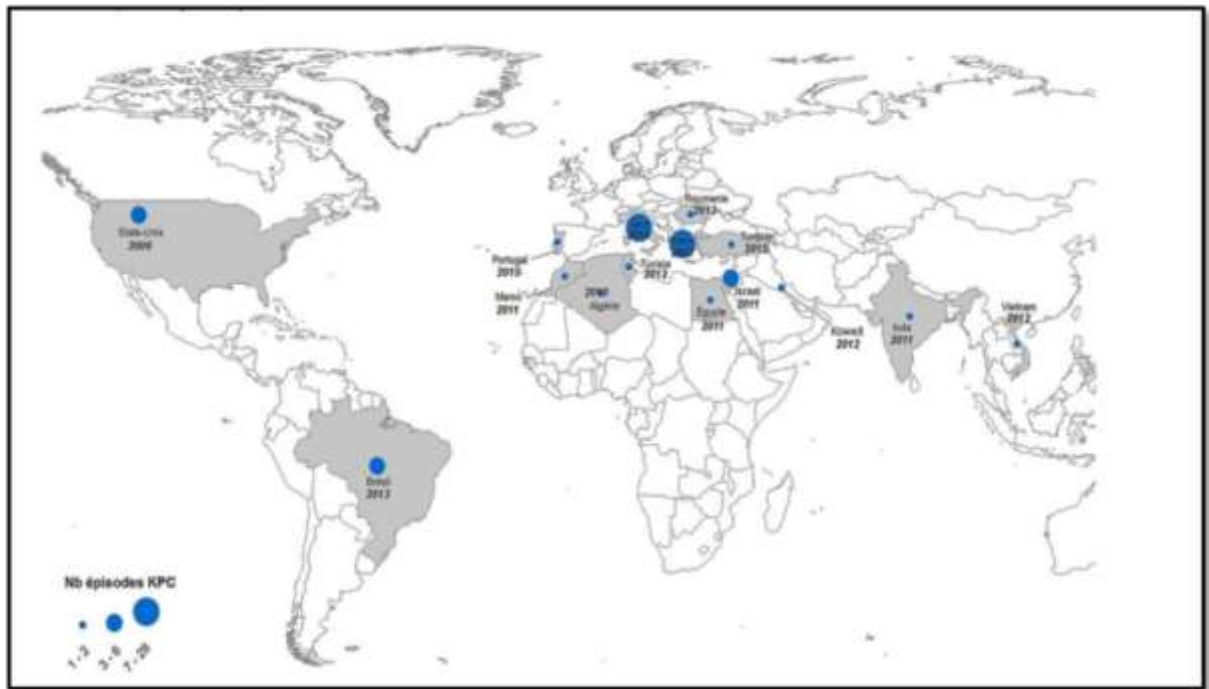
**Tableau A** : Nombre d'épisodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénèmases en lien avec l'étranger signalés en France entre 2004 et 2015, selon les 21 principaux pays cités et le mécanisme de résistance (N = 971). Santé publique France ; réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (RAISIN).

Pays	Mécanismes de résistance (carbapénèmases)					Nombre total d'épisodes*
	OXA-48 et OXA-48-like	NDM	KPC	VIM	IMI	
Maroc	237	19	2			246
<b>Algérie</b>	<b>159</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>1</b>		<b>166</b>
Tunisie	87	21	1	1		105
Inde	19	63	2			73
Égypte	44	16	1	3		59
Turquie	44	2	1	2		47
Sénégal	39	5				43
Grèce	1	1	28	10		39
Italie	5	1	27	6		39
Libye	22	1				22
Roumanie	14	2	1	1		18
Koweït	11	5	2	2		17
Cambodge	12	4				14
Congo	9	5				13
Ile Maurice	3	10				12
Vietnam	3	8	2		1	12
Espagne	7	1		2		10
Cameroun	8	1				9
Côte d'Ivoire	8				1	9
Israël	2	1	6			9
Liban	9					9

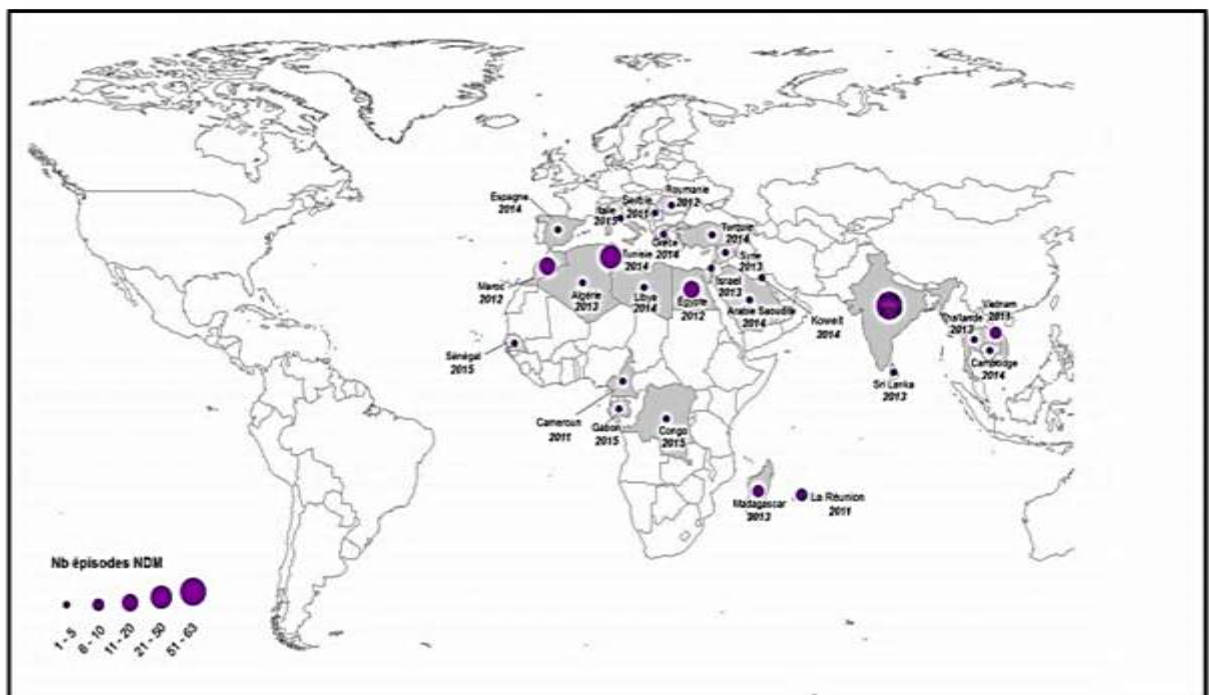
\* Nombre total d'épisodes pour lesquels le pays a été cité.  
NB : pour un même épisode, plusieurs mécanismes de résistance différents peuvent être impliqués.



**Figure A** : Origine géographique du cas index des épisodes EPC de type OXA-48-like en lien avec un pays étranger, et année de première identification en France, 2004-2015 (N = 778 épisodes). ©ESRI-Data & Maps®, 2015 ; Signalements des infections nosocomiales-équipes d'hygiène laboratoires de bactériologie, CNR, septembre 2015, ©Santé publique France, 2016.



**Figure B** : Origine géographique du cas indes des épisodes EPS de type KPC en lien avec un pays étranger, et année de première identification en France ,2004-2015(N=87épisodes). ©ESRI-Data & Maps®, 2015 ; **Signalements des infections nosocomiales-équipes d’hygiènes laboratoires de bactériologie, CNR, septembre2015, ©Santé publique France, 2016.**



**Figure C** : Origine géographique du cas indes des épisodes EPC de type NDM en lien avec un pays étranger, et année de première identification en France, 2004-2015(N=191épisodes).©ESPI-Data & Maps®, 2015, **Signalements des infections nosocomiales-équipes d’hygiènes, laboratoires de bactériologie, CNR septembre 2015 ; ©Santé publique France, 2016.**

**Tableau B** : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20<sup>E</sup>

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-Galactosidase	Beta- galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / immédiat	
			Jaune	Marron rougeâtre
IND	L-tryptophane	Production d'indole	James/ immédiat	
			Incolore/ vert pâle-jaune	rose
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2/ 10mn	
			Incolore	Rose/ rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D-mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
Nitrate réductase Tube GLU	Potassium nitrate	Production de NO <sub>2</sub>	NIT1 + NIT2 / 2-3 mn	
			Jaune	Rouge
		Réduction au stade N <sub>2</sub>	Zinc / 5mn	
			Rouge/orangé	Jaune

**Tableau C : Résultats des tests d'identification biochimique réalisée par API 20E**

Test Isolat	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	L'espèce
05	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>Serratia odorifera</i>
09	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Kluyvera spp</i>
10	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>
11	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
12	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
13	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera</i>
15	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
16	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera</i>
17	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
22	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter gergoviae</i>
23	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
25	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
26	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
27	+	-	+	+	+	-	+	+	--	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
28	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
29	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
30	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
32	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
33	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
34	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
35	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
36	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
37	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
38	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
39	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>
40	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
41	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
42	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>

Suite de Tableau C

43	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
44	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Kluyvera spp</i>
46	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
47	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
48	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
49	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>E.coli 1</i>
50	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia liquefaciens</i>
51	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
52	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter aerogenes</i>
53	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera</i>
54	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
55	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
56	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
57	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
60	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>E.coli 1</i>
61	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
62	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
63	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
64	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
65	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	<i>Kluyvera spp</i>
66	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter sakazakii</i>
67	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
68	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia liquefaciens</i>
69	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera</i>
71	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
73	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
74	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
75	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
76	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>

Suite de Tableau C

<b>77</b>	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
<b>78</b>	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
<b>79</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
<b>80</b>	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera</i>
<b>81</b>	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Serratia odorifera</i>
<b>82</b>	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>E.coli 1</i>



**Tableau D** : Résultats de test de sensibilité aux carbapénèmes, du test Carba NP et du test de Hodge modifié

<b>Souche</b>	<b>Imipénème</b>	<b>Ertapénème</b>	<b>Test Carba NP</b>	<b>Test Hodge modifié</b>
<b>01</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>NI</b>	<b>Négatif</b>
<b>02</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>03</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>04</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>NI</b>	<b>NT</b>
<b>05</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>06</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>Négatif</b>
<b>07</b>	<b>I</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>08</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>09</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Positif</b>	<b>Positif</b>
<b>10</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>NI</b>	<b>NT</b>
<b>11</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>12</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>NI</b>	<b>Négatif</b>
<b>13</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>14</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Positif</b>	<b>Positif</b>
<b>15</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>16</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>17</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>18</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>19</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>20</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>NI</b>	<b>NT</b>
<b>21</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>22</b>	<b>S</b>	<b>/</b>	<b>NI</b>	<b>NT</b>
<b>23</b>	<b>S</b>	<b>/</b>	<b>NI</b>	<b>NT</b>
<b>24</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>25</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>26</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>NI</b>	<b>Négatif</b>
<b>27</b>	<b>S</b>	<b>/</b>	<b>Positif</b>	<b>Positif</b>
<b>28</b>	<b>S</b>	<b>/</b>	<b>NI</b>	<b>NT</b>
<b>29</b>	<b>S</b>	<b>/</b>	<b>NI</b>	<b>NT</b>
<b>30</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>31</b>	<b>R</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>Négatif</b>
<b>32</b>	<b>S</b>	<b>/</b>	<b>NI</b>	<b>NT</b>
<b>33</b>	<b>S</b>	<b>/</b>	<b>Négatif</b>	<b>Négatif</b>
<b>34</b>	<b>S</b>	<b>/</b>	<b>Positif</b>	<b>Négatif</b>
<b>35</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>36</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>37</b>	<b>S</b>	<b>/</b>	<b>Positif</b>	<b>Négatif</b>
<b>38</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>39</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>40</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>41</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>
<b>42</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>Négatif</b>	<b>NT</b>

**Suite du Tableau D**

<b>Souche</b>	<b>Imipénème</b>	<b>Ertapénème</b>	<b>Test Carba NP</b>	<b>Test Hodge modifié</b>
43	I	S	Négatif	NT
44	I	S	Positif	Positif
45	R	/	Négatif	Négatif
46	R	/	Négatif	NT
47	S	S	NI	NT
48	I	S	Négatif	NT
49	I	S	NI	NT
50	I	S	NI	NT
51	S	S	NI	NT
52	I	S	Négatif	NT
53	R	R	Positif	Positif
54	R	R	NI	NT
55	I	I	Négatif	NT
56	I	I	Négatif	NT
57	R	R	Positif	Positif
58	R	R	Négatif	NT
59	R	R	Négatif	NT
60	S	S	Positif	Négatif
61	I	I	Négatif	NT
62	S	R	NI	NT
63	I	R	NI	NT
64	R	R	Positif	Positif
65	R	R	Négatif	NT
66	R	R	NI	NT
67	I	S	Négatif	NT
68	I	S	Négatif	NT
69	S	S	NI	NT
71	R	R	Négatif	NT
73	S	/	Positif	Négatif
74	S	/	NI	NT
75	R	R	Négatif	NT
76	I	R	Négatif	NT
77	R	/	Négatif	NT
78	S	S	NI	NT
79	I	R	NI	NT
80	R	S	Négatif	NT
81	R	/	Négatif	NT
82	R	/	Négatif	NT

**NT** : Non testé, **NI** : Non Interprétable, **R** : Résistante, **S** : Sensible, **I** : Intermédiaire

## Milieux de culture utilisés

Les compositions sont données pour un litre de milieu.

### 1. Bouillon Nutritif (BN)

- Extrait d'œuf 1.0g
- Extrait de levure 2.0g
- Peptone 5.0g
- Chlorure de sodium 5.0 g

PH  $6,8 \pm 0,2$  à 25°C.

### 2. Gélose Nutritive (GN)

- Extrait de viande : 1,0g
- Extrait de levure : 2,5g
- Peptone : 5,0g
- Chlorure de sodium : 5,0 g
- Agar : 15,0 g

### 3. Gélose au cetrimide (GC)

- Peptone pancréatique de gélatine 20g
- Cetrimide 0,3g
- Chlorure de magnésium 1,4g
- Sulfate de potassium 10, 0g
- Agar agar bactériologique 15,0g

Ajouter 10 ml du glycérol à 1000ml de gélose de base

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $7,2 \pm 0,2$ .

### 4. Gélose Mueller-Hinton (MH)

- Infusion de viande de bœuf : 300 g
- Peptone de caséine : 17,5 g
- Amidon de maïs : 1,5 g
- Agar: 17, 0 g

PH = 7, 4

## **5. Gélose Mac Conckey**

- Peptone: 20,0 g
  - Lactose: 10,0 g
  - Sels biliaires: 5,0 g
  - Cristal violet: 0,001 g
  - Rouge neutre: 0,075 g
  - Chlorure de sodium: 5,0 g
  - Agar: 12,0 g
- PH final  $7,4 \pm 0,2$

## **6. Gélose Hecktoen**

- Protéose peptone : 12,0 g
  - Extrait de levure : 3,0 g
  - Chlorure de sodium : 5,0 g
  - Thiosulfate de sodium : 5,0 g
  - Sels biliaires : 9,0 g
  - Citrate de fer ammoniacal : 1,5g
  - Salicine: 2,0 g
  - Lactose: 12,0g
  - Saccharose: 12,0g
  - Fuschine acide : 0,1g
  - Bleu de bromothymol : 0,065g
  - Agar : 14,0g
  - Eau distillée 1000 ml
- PH: 7,5



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessi - Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Amara Noémie

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : Biologie appliquée

N° de carte d'étudiant : 34 0179 34 / 2013

Année universitaire : 2017-2018

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé du mémoire : Recherche des carbapénèmes chez les souches bactériennes cliniques

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive

20 جوان 2018



Fait à Tébessa, le : 25-06-2018

Signature de l'étudiant(e) :

Amara -



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessi - Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : BOUMELBA Amed

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie appliquée

N° de carte d'étudiant : 05/6003553/2005

Année universitaire : 2017-2018

Domaine : Science de nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé du mémoire : Recherche des carbapénèmes chez

les souches bactériennes cliniques

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

20 جوان 2018

Fait à Tébessa, le : 26.05.2018



Signature de l'étudiant(e) :