



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Aboubakr Belkaid – Tlemcen –



Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie, et sciences de la terre et de  
l'univers  
Département de Biologie

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement  
« LAMAABE »

## MÉMOIRE

Présenté par

**SMAHI Belkis et BENCHAIIB Nihel**

En vue de l'obtention du

**Diplôme de Master en Science Biologiques**

**Option : Microbiologie et contrôle de qualité**

### Thème

**Étude de la résistance des bacilles à Gram négatif aux carbapénèmes  
et à la colistine au CHU de Tlemcen**

Soutenu publiquement, le 21/06/2023, devant le jury composé de :

<b>Président</b>	<b>Mr Rebiahi Sid Ahmed</b>	<b>Professeur</b>	<b>Université de Tlemcen</b>
<b>Encadrant</b>	<b>Mme Ayad Amel</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Tlemcen</b>
<b>Examineur</b>	<b>Mme Bellifa Samia</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Tlemcen</b>

**Année universitaire : 2022 /2023**

## **Remerciements**

*Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant pour ses bienfaits inestimables, de nous avoir permis de terminer nos études ainsi que ce modeste travail dans de bonnes conditions.*

*Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de microbiologie (LAMAABE) de l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre promoteur de mémoire, **Madame Ayad Amel**, maitre de conférences au département de biologie à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen pour sa disponibilité, ses conseils avisés et sa bienveillance tout au long de la réalisation de ce travail. Sa rigueur scientifique et son professionnalisme nous ont permis de progresser dans notre réflexion et de mener à bien ce projet.*

*Nos remerciements s'adressent également à **Mr Rebiahi Sid Ahmed** professeur au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury. et **Mme Bellifa Samia** Maître de Conférences au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce travail.*

*Nous tenons à remercier **Mme HASSAÏNE H**, professeur à l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen et directrice du laboratoire de microbiologie (LAMAABE) de Tlemcen de nous avoir accueillie au sein de son laboratoire pour réaliser la partie pratique de notre travail.*

*Nous tenons également à exprimer notre sincère gratitude aux membres du laboratoire, particulièrement la doctorante **Melle Latti Nawel**, leur aide précieuse ont grandement contribué à la réussite de notre projet. Nous sommes reconnaissants pour leur accueil chaleureux et leur disponibilité constante, qui ont rendu cette expérience de recherche très enrichissante.*

*Nous tenons à remercier aussi*

***Mr Medjadi Sidi mohamed** chef de service de réanimation et **Mr Smahi Chams eddine** chef de service de néonatalogie, **Mr Chorfi Rachid** coordinateur médical du service de réanimation ainsi que le personnel médicale et paramédicale des services de réanimation et de néonatalogie du CHU de Tlemcen.*

## Remerciements

---

*L'ensemble des enseignants qui ont participé à notre parcours universitaire. Leur engagement, leur passion et leur professionnalisme ont été des sources d'inspiration pour nous tout au long de notre formation.*



## ***Dédicace***

*À mes chers parents, Smahi Zine edine, Mehtar Farida qui m'ont toujours soutenus et encouragés dans mes études. Je tiens également à remercier mon frères Abderrahmane et mes sœurs Sarra et Rofeida pour leur amour et leur soutien constants tout au long de cette aventure académique.*

*À ma famille, pour leurs soutiens moraux et leurs encouragements.*

*La bienveillance et le soutien de Tadlaoui Mohamed ont été des atouts inestimables. Je tiens à lui exprimer mes plus profondes gratitudees et lui dédions ce mémoire en signe de reconnaissance.*

*À mes amis, Nihel, Aya, Roumaissa, Djazia, Sarra, Wafaa , Aida ,Asma, Rania, , Amani, Raoua, Amaria, Younes et Nadir pour leur soutien moral, leur encouragement et leur présence réconfortante, pour les précieux moments que nous avons partagés, autant dans la joie que dans les moments de découragement.*

*Enfin, je dédié ce travail à Mr Sidi Mohamed Merzougui, Mr guelil sohaib, Mr Benhamed mohamed qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, je suis profondément reconnaissante et je vous adresse mes sincères remerciements.*

*À tous, merci infiniment.*

***Smahi Belkis***

## ***Dédicace***

*À mes chers parents, Benghaffor Amel et Benchaib Abdelmadjid qui m'ont toujours soutenus et encouragés dans mes études. Je tiens également à remercier mon frère Abdelhadi, ainsi ma sœur Nesrine pour leur amour et leur soutien constants tout au long de cette aventure académique.*

*À mes amis: Belkis, Amani, Aya, Roumaïssa, Sarra, Wafaa, Aida, Asma, Rania, Djazia, Amaria, Raoua, Younes et Nadir pour leur soutien moral, leur encouragement et leur présence réconfortante, pour les précieux moments que nous avons partagés, autant dans la joie que dans les moments de découragement.*

*Enfin, je dédie docteur Mahi, nawel, Sidi Mohamed Merzougui, guelil sohaib, oussama, et Benhamed mohamed qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, je suis profondément reconnaissantes et je vous adresse mes sincères remerciements.*

*À tous, merci infiniment.*

***Benchaib Nihel***

## ملخص

يشكل الانتشار السريع للعصيات سالبة الجرام مشكلة كبيرة داخل مؤسسات الرعاية الصحية، حيث تمثل مقاومتها المتزايدة للمضادات الحيوية، ولا سيما الكاربابينام والكوليسيتين، تحديا كبيرا للتكفل بالعدوى المرتبطة بالرعاية الصحية. بين مارس وماي 2023، تم عزل ما مجموعه 54 سلالة على مستوى مصلحة الإنعاش ومصلحة طب حديثي الولادة بالمستشفى الجامعي لتلمسان. من بين هذه السلالات، كانت 36 مقاومة للكاربابينيمات مع غالبية أسينتوباكتر بوماني (39%) تليها بسودوموناس ايروجينوزا (33%) والكليبسيلا الرئوية (19%)، وكانت 35 سلالة مقاومة للكوليسيتين مع غالبية بسودوموناس ايروجينوزا (37%) تليها الكليبسيلا الرئوية (29%). لوحظت في هذه الدراسة معدلات عالية من المقاومة لمعظم المضادات الحيوية التي تم اختبارها (البيبتاكتامين ، الأمينوزيد ، الكينولون والكوليسيتين) ، مما يدل على وجود سلالات متعددة المقاومة للأدوية. ترجع مقاومة السلالات المدروسة للكاربابينيم إلى إنتاج انزيمات الكاربابينيماز. من الجدير بالذكر أنه 28% من هذه السلالات هي البكتيريا المعوية المنتجة للكاربابينيماز التي تم رصدها لأول مرة في غرب الجزائر في هذه الدراسة .

**الكلمات المفتاحية:** عضية سالبة الجرام، بكتيريا معوية، مقاومة، كاربابينام، كوليسيتين ، المستشفى الجامعي لتلمسان.

## Résumé

La diffusion rapide des bacilles à Gram négatif (BGN) constitue un problème majeur au sein des établissements de santé. Leur résistance croissante aux antibiotiques notamment aux carbapénèmes et à la colistine représente un défi significatif pour la prise en charge des infections liées aux soins. Entre Mars et Mai 2023, un total de 54 souches de BGN a été isolé au niveau des services de réanimation et de néonatalogie dans le CHU de Tlemcen. Parmi celles-ci, 36 étaient résistantes aux carbapénèmes avec une prédominance d'*Acinetobacter baumannii* (39%) suivie de *Pseudomonas aeruginosa* (33%) et de *Klebsiella pneumoniae* (19%). 35 souches étaient résistantes à la colistine dont *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce majoritaire (37%) suivie de *Klebsiella pneumoniae* (29%). Des taux élevés de résistance pour la plupart des antibiotiques testés ( $\beta$ -lactamines, aminosides, quinolones et colistine) ont été observés, témoignant la présence de souches multirésistantes. La résistance des souches étudiées aux carbapénèmes est due à la production de carbapénémase, soulignant que parmi ces souches 28% sont des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) détectées pour la première fois dans l'Ouest algérien et considérées comme des Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRe).

**Mots clés** : Bacilles à Gram négatif, entérobactéries, résistance, carbapénèmes, colistine, CHU de Tlemcen.

## Abstract

The rapid spread of Gram-negative bacilli (GNB) constitutes a major problem within healthcare institutions. Their increasing resistance to antibiotics, in particular carbapenems and colistin, represents a significant challenge for the management of healthcare-related infections. Between March and May 2023, a total of 54 BGN strains were isolated in the intensive care unit and neonatology wards at Tlemcen University Hospital. 36 of these strains were resistant to carbapenems with a predominance of *Acinetobacter baumannii* (39%) followed by *Pseudomonas aeruginosa* (33%) and *Klebsiella pneumoniae* (19%). 35 strains were resistant to colistin of which *Pseudomonas aeruginosa* is the majority species (37%) followed by *Klebsiella pneumoniae* (29%). High rates of resistance for most of the antibiotics tested ( $\beta$ -lactams, aminoglycosides, quinolones and colistin) were observed, testifying to the presence of multidrug-resistant strains. The resistance of the studied strains to carbapenems is due to the production of carbapenemase, highlighting that among these strains 28% are carbapenemase-producing enterobacterales (CPE) detected for the first time in Western Algeria and considered as Emerging Highly Resistant Bacteria (eHRB).

**Key words:** Gram-negative bacilli, enterobacterales, resistance, carbapenems, colistin, Tlemcen University Hospital.

## Table des matières

Liste des abréviations .....	I
Liste des Tableaux.....	III
Liste des figures .....	IV
<b>Introduction</b> .....	1

### Synthèse bibliographique

#### Chapitre 1 : les bacilles a Gram négatif

1. Bacilles à Gram négatif .....	3
1.1 Les entérobactéries .....	3
1.1.1 <i>Escherichia coli</i> .....	4
1.1.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	4
1.1.3 <i>Enterobacter cloacae</i> .....	5
1.1.4 <i>Proteus</i> .....	6
1.1.5 <i>Providencia</i> .....	6
1.2 Les bacilles à Gram négatif non fermentaires .....	7
1.2.1 <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	7
1.2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	8
1.2.3 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .....	8
1.2.4 <i>Burkholderia cepacia</i> .....	9

#### Chapitre 2 : Carbapénèmes

2. Carbapénèmes .....	11
2.1 Définition et structure chimique.....	11
2.2 Mécanisme d'action des carbapénèmes .....	13
2.3 Spectre d'action des carbapénèmes.....	14
2.4 Résistance des bacilles Gram négatif aux carbapénèmes.....	14
2.4.1 Résistance enzymatique aux carbapénèmes .....	14
2.4.2 Imperméabilité .....	16
2.4.3 Pompe d'efflux.....	16
2.4.4 L'association de l'expression de céphalosporinases et une diminution de perméabilité .....	17

#### Chapitre 3: La colistine

3. La colistine .....	18
3.1 Structure chimique .....	18
3.2 Mécanisme d'action .....	18
3.3 Spectre d'action.....	19
3.4 Résistance des bacilles à Gram négatif à la colistine .....	19

#### Matériel et méthodes

1. Matériel .....	21
1.1 Souches étudiées .....	21
1.2 Milieux de culture .....	21

1.3 Tests biochimiques .....	21
1.4 Antibiotiques .....	21
2 Méthode.....	22
2.1 Lieu d'étude.....	22
2.2 Prélèvement.....	22
2.3 Isolement et purification.....	22
2.4 Identification .....	22
2.4.1 Test de la gélose triple sucre-fer (TSI) .....	23
2.4.2 Test d'oxydase .....	23
2.4.3 Galerie API.....	23
2.5 Conservation des souches.....	24
2.6 Étude de la sensibilité des bacilles à Gram négatifs aux antibiotiques .....	24
2.6.1 Antibiogramme.....	24
2.6.2 Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).....	25
2.7 Etude des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines .....	28
2.7.1 Recherche de la production de carbapénémases par ChromID CARBA SMART .....	28
2.7.2 Test de synergie .....	29
<b>Résultats et discussion</b>	
1. Résultats .....	29
1.1 Prélèvements .....	29
1.2 Répartition des souches identifiées .....	30
1.3 Souches résistantes aux carbapénèmes .....	34
1.3.1 répartition des souches .....	34
1.3.2 Résistance aux antibiotiques des souches résistantes aux carbapénèmes .....	36
1.3.3 Concentration minimale inhibitrice des carbapénèmes.....	37
1.4 Souches résistantes à la colistine.....	39
1.4.1 répartition des souches .....	39
1.4.2 Résistance aux antibiotiques des souches résistantes à la colistine .....	41
1.4.3 Concentration minimale inhibitrice de la colistine .....	44
1.5 Phénotype de résistance aux $\beta$ -lactamines .....	46
1.5.1 Résultats de test ChromID CARBA SMART .....	46
1.5.2 Résultats de test de synergie.....	47
2. Discussion .....	49
<b>Conclusion.....</b>	<b>52</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>54</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>71</b>

## Liste des abréviations

<b>ADH</b>	Arginine deshydrogénase
<b>AMC</b>	Amoxicilline + acide clavulanique
<b>AMP</b>	Ampicilline
<b>ATM</b>	Aztréonam
<b>BCC</b>	Le complexe Burkholderia cepacia
<b>BGN</b>	Bacille gram négatif
<b>BHRe</b>	Bactéries Hautement Résistantes émergentes
<b>BLSE</b>	Bêta-lactamase à Spectre Etendu
<b>BMR</b>	Les Bactéries Multi Résistantes
<b>CAZ</b>	Céftazidime
<b>CF</b>	Céphalotine
<b>CFU</b>	Unité formant colonie
<b>CIP</b>	Ciprofloxacine
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>CTX</b>	céfotaxime
<b>EPC</b>	les Entérobactéries productrices de carbapénémases
<b>CPS</b>	polysaccharide capsulaire
<b>CRO</b>	Céftriaxone
<b>Dab</b>	Acide $\alpha,\gamma$ -diaminobutyrique
<b>EDTA</b>	Acide éthylènediaminetétraacétique
<b>EMB</b>	Eosin Methylene Blue
<b>FEP</b>	Céfépime
<b>FOX</b>	Céfoxitine
<b>GN</b>	Gentamycine
<b>H2S</b>	Thiosulfate de sodium
<b>IPM</b>	Imipénème
<b>K</b>	Kanamycine
<b>LDC</b>	Lysine-décarboxylase

<b>LPS</b>	Lipopolysaccharide
<b>MBLs</b>	Metallo - $\beta$ -lactamases
<b>MDR</b>	Multi Drug Resistance
<b>MRP</b>	Méropénème
<b>NA</b>	Acide nalidixique
<b>NAG</b>	N-acétylglucosamine
<b>NAM</b>	Acide N-acétylmuramique
<b>ODC</b>	Ornithine-décarboxylase
<b>OFPBL</b>	Oxidation/Fermentation-Polymyxin-Bacitracin-Lactose
<b>OFX</b>	Ofloxacin
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>ONPG</b>	Orthonitrophényl-galactose
<b>OXA</b>	Oxacilline
<b>PIP</b>	Pipéracilline
<b>PLP</b>	Protéines de liaison pénicillines
<b>TCC</b>	Ticarcilline+acide clavulanique
<b>TDA</b>	Tryptophanedésaminase
<b>TIC</b>	Ticarcilline
<b>TOB</b>	Tobramycine
<b>TSI</b>	Triple sugar Iron Agar
<b>VRBGL</b>	Violet Red Bile Glucose

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1.</b> Répartition des prélèvements selon les services et les sites de prélèvement. ....	29
<b>Tableau 2.</b> Résultats des tests d'identification des souches étudiées. ....	31
<b>Tableau 3.</b> Concentration minimale inhibitrice des carbapénèmes. ....	38
<b>Tableau 4.</b> Concentration minimale inhibitrice de la colistine. ....	44

---

---

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Les différentes structures de base des classes de $\beta$ -lactamines.....	11
<b>Figure 2.</b> Structure des pénèmes.....	12
<b>Figure 3.</b> Structure des carbapénèmes.....	12
<b>Figure 4.</b> Structure de la colistine.....	18
<b>Figure 5.</b> Schéma des antibiotiques.....	25
<b>Figure 6.</b> Mesure de la CMI par méthode E-Test.....	26
<b>Figure 7.</b> Boite de ChromID CARBA SMART.....	28
<b>Figure 8.</b> Répartition des souches isolées selon le groupe bactérien.....	30
<b>Figure 9.</b> Répartition des souches isolées selon les espèces.....	30
<b>Figure 10.</b> Identification des entérobactéries par galerie API20E.....	33
<b>Figure 11.</b> Identification des BGN non fermentaires par galerie API 20E et API 20 NE.....	34
<b>Figure 12.</b> Répartition des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes selon les espèces.....	35
<b>Figure 13.</b> Répartition des bacilles à Gram négatif résistants au carbapénème au niveau de la réanimation.....	35
<b>Figure 14.</b> Taux de résistance aux antibiotiques des BGN non fermentaires.....	36
<b>Figure 15.</b> Taux de résistance aux antibiotiques des entérobactéries.....	37
<b>Figure 16.</b> Résultats d'E test.....	38
<b>Figure 17.</b> Répartition des bacilles à Gram négatif résistants à la colistine.....	39
<b>Figure 18.</b> Répartition des bacilles à Gram négatif résistants à la colistine au niveau de la réanimation.....	40
<b>Figure 19.</b> Répartition des bacilles à Gram négatif résistants à la colistine au niveau de service de néonatalogie.....	41
<b>Figure 20.</b> Résistance aux antibiotiques des BGN non fermentaires résistants à la colistine..	42

<b>Figure 21.</b> Résistance aux antibiotiques des entérobactéries résistantes à la colistine.....	42
<b>Figure 22.</b> Résistance aux antibiotiques des BGN non fermentaires au niveau des deux services. ....	43
<b>Figure 23.</b> Résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau des deux services. ....	44
<b>Figure 24.</b> Résultats des CMI de la colistine sur microplaque. ....	46
<b>Figure 25.</b> Résultats de l'antibiogramme et test ChromID CARBA SMART. ....	47
<b>Figure 26.</b> Résultats de l'antibiogramme et de test de synergie. ....	48

# *INTRODUCTION*

### Introduction

La découverte des antibiotiques, a révolutionné le monde microbien et a apporté de grands bienfaits à l'humanité en aidant à traiter de nombreuses infections bactériennes et à réduire la mortalité et la morbidité mondiale (Muylaert et Mainil, 2012). Toutefois, l'utilisation excessive et parfois inconsciente de ces molécules a contribué à l'émergence de bactéries multirésistantes (Carle, 2009). Le transfert horizontal des gènes de résistance contribue de manière significative à la dissémination rapide de ces bactéries (Lerminiaux et Cameron, 2019).

La propagation de l'antibiorésistance est nettement accélérée depuis les années 2000 (O'Neill, 2016). En effet, ce problème a été pris en considération pour la première fois en 1998 par l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Cette préoccupation mondiale nécessite de mettre en œuvre des plans d'actions pour la combattre et pour la confirmation de l'importance de cette menace (Coignard, 2019).

Parmi les bactéries multirésistantes, responsables des infections liées aux soins, les bacilles à Gram négatif (BGN) occupent une place importante représentant une préoccupation majeure de santé publique (Oliveira et Reygaert, 2022). D'autre part, la prévalence de ces agents pathogènes est plus élevée dans certains pays africains. En Algérie, cette dernière décennie a été marquée par l'émergence de nouveaux gènes de résistance notamment chez les bacilles à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et les entérobactéries tels que *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (Mesli *et al.*, 2013 ; Baba Ahmed et Arlet, 2014 ; Sefraoui, 2015 ; Ayad *et al.*, 2016).

Les BGN multirésistants posent un défi majeur en matière de traitement, nécessitant l'utilisation d'antibiotiques de dernier recours tels que les carbapénèmes et la colistine. Les carbapénèmes, appartenant à la famille des  $\beta$ -lactamines, sont largement utilisés pour traiter diverses infections en milieu hospitalier. Toutefois, leur utilisation fréquente a entraîné une adaptation des bactéries, en particulier à travers la production des carbapénémases (Nordmann, 2010).

L'émergence également de la résistance à la colistine chez les BGN multirésistants constitue un défi pour la santé. Cette résistance limite les options thérapeutiques car la colistine est considérée comme un antibiotique de choix pour lutter contre les infections causées par ces bactéries multirésistantes (El-Sayed *et al.*, 2020).

De nombreuses études ont signalé l'isolement croissant de bacilles à Gram négatif multirésistants, pour lesquelles seuls les carbapénèmes et la colistine restent actifs. En effet, la diffusion des souches résistantes à ces antibiotiques à augmenter dans le monde (Neonakis *et al.*, 2010 ; Parisi *et al.*, 2015) et en Algérie (Mesli *et al.*, 2013 ; Sefraoui, 2015 ; Ayad *et al.*, 2016). Notre étude qui rentre dans ce cadre a pour objectif d'évaluer la résistance aux carbapénèmes et à la colistine des BGN au CHU de Tlemcen. Elle est divisée en trois parties, la première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle sont présentés les principaux bacilles à Gram négatifs impliqués dans les infections liées aux soins en rappelant leurs caractéristiques et les mécanismes d'action de carbapénème et de la colistine ainsi que les mécanismes de résistance des BGN a ces deux antibiotiques. Ensuite, dans une deuxième partie, sont présentés le matériel et les méthodes utilisés. Enfin, la troisième partie est consacrée aux résultats obtenus, qui portent principalement sur l'état actuel de la résistance aux carbapénèmes et à la colistine au niveau de CHU de Tlemcen.

*SYNTHÈSE*

*BIBLIOGRAPHIQUE*

## 1. Bacilles à Gram négatif

Les bacilles à Gram négatifs (BGN) sont couramment présents en milieu clinique, comme partie de la flore normale et comme agents pathogènes dans diverses infections. L'utilisation anarchique d'antibiotiques a entraîné l'apparition de la résistance aux carbapénèmes et à la colistine (Brideau *et al.*, 2022 ; Dortet *et al.*, 2016), malgré que ces derniers étaient perçus comme étant l'arme principale pour traiter les infections potentiellement fatales (Yadav *et al.*, 2021). Les bactéries à Gram négatif peuvent être regroupées en deux catégories principales : les BGN fermentaires (entérobactéries) et non-fermentaires (Denis *et al.*, 2016).

### 1.1 Les entérobactéries

Les entérobactéries ou bactéries entériques appartenant à la famille d'Enterobacteriaceae, ont des caractéristiques similaires. Ce sont des bacilles à Gram négatif, en majorité mobiles avec une ciliature péritriche (Verhaegen, 2004). Elles peuvent se cultiver sur les milieux ordinaires et aussi sur quelques milieux sélectifs comme MacConkey, Drigalski, Hektoen, Eosin Methylene Blue (EMB) et Violet Red Bile Glucose (VRBGL) (Delarras, 2007). Leurs colonies sont généralement bombées, lisses et brillantes, avec un diamètre de 1 à 3 mm (Denis *et al.*, 2016). Ces bactéries ont la capacité de fermenter le glucose et le lactose avec souvent production de gaz. Elles possèdent une nitrate réductase qui réduit le nitrate en nitrite et une catalase décomposant le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau et oxygène (Pilly, 2018). Cependant, elles sont oxydase négative. Leur type respiratoire est aéro- anaérobie facultatif (Denis *et al.*, 2016).

Les entérobactéries sont présentes dans différentes niches écologiques, très répandue surtout dans les milieux humides de l'environnement (l'eau, sol...), elles sont également retrouvées dans le tube digestif de l'homme et l'animal et considérées comme une flore commensale (Verhaegen, 2004).

On distingue deux types d'entérobactéries pathogènes : les pathogènes opportunistes et les pathogènes stricts. Ces derniers comprennent des germes qui ne se trouvent chez l'homme qu'en cas d'infection, bien que les autres sont des bactéries symbiotiques qui ne causent des maladies que lorsque les conditions deviennent favorables ou lorsqu'ils sont transmis dans un endroit normalement stérile (Davin-Regli *et al.*, 2019, Peterson, 1996).

Des infections aiguës de gravité variable sont dues aux entérobactéries, tels que les pneumonies bactériennes, les infections des voies urinaires, les septicémies, les endocardites, les méningites et les infections intra-abdominales graves (Tilahun *et al.*, 2021). *Escherichia*

*coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp*, *Enterobacter cloacae* et *Providencia stuartii* sont parmi les entérobactéries les plus fréquemment isolées en milieu hospitalier. Ces bactéries sont responsables d'un large éventail d'infections. Elles représentent donc un défi majeur en termes de santé publique (Nordmann, 2006 ; Minchella *et al.*, 2008).

### 1.1.1 *Escherichia coli*

Les caractéristiques qui distinguent *Escherichia coli* des autres entérobactéries sont la formation d'indole à partir du tryptophane, l'incapacité d'utilisation de citrate comme source de carbone, l'absence d'uréase et d'H<sub>2</sub>S (Denis *et al.*, 2016 ; Sussman,1997).

*Escherichia coli* est une bactérie non sporulante, aéro-anaérobie facultative. Elle présente souvent une mobilité grâce à ses flagelles répartis de manière péritriche (Sussman,1997). Ses colonies présentent des caractéristiques distinctes. Elles sont bas, convexes, lisses, elles ont généralement un diamètre de 1 à 3 mm et une forme régulière (Nolan *et al.*,2013).

*Escherichia coli* est fréquemment retrouvée dans la flore commensale, notamment au niveau du tractus intestinal. De plus, elle est largement répandue dans différents milieux environnementaux tels que l'eau, les sols et les aliments (Baraduc *et al.*,2000).

Différents pathovars d'*E. coli* ont la capacité de causer des maladies chez les individus en bonne santé. Huit sont définies : *E. coli* entéropathogène, *E. coli* entérohémorragique, *E. coli* entérotoxigène, *E. coli* entéroaggrégatif, *E. coli* entéroinvasif et *E. coli* à adhérence diffuse, (Kaper *et al.*,2004) *E. coli* uropathogène (Agarwal *et al.*,2012) et *E. coli* associées à des méningites et des septicémies (Peigne *et al.*,2009). Une infection par l'un de ces pathovars peut entraîner quatre syndromes cliniques généraux : les maladies entériques/diarrhéiques, les infections des voies urinaires, septicémie ou méningite (Kaper *et al.*,2004).

*E. coli* présente divers facteurs de virulence et toxines qui contribuent à sa capacité pathogène. La paroi cellulaire d'*Escherichia coli* est dotée d'antigènes lipopolysaccharidiques O spécifiques à chaque souche, ainsi que des flagelles ou des antigènes H. En outre, *E. coli* possède des antigènes capsulaires polysaccharidiques (K) différents (Sussman,1997).

### 1.1.2 *Klebsiella pneumoniae*

*Klebsiella pneumoniae* est caractérisée par l'utilisation de citrate comme source de carbone et d'énergie, la présence d'uréase, la réaction de Voges-Proskauer positive et l'absence de production d'indole (Denis *et al.*,2016).

Les bactéries appartenant au genre *Klebsiella* se caractérisent par leur immobilité permanente. De plus, la présence d'une capsule conférant aux colonies une texture muqueuse, parfois filante (Denis *et al.*, 2016). Les colonies de cette espèce sont de type mucoïde sur gélose présentant une apparence distinctive, elles sont volumineuses, avec un diamètre de 3 à 4 mm, bombées, brillantes et opaques (Freney *et al.*, 2007).

Les infections causées par *Klebsiella pneumoniae* peuvent avoir des conséquences graves en termes de morbidité et de mortalité, en particulier chez les nouveau-nés, les personnes âgées et les individus immunodéprimés (Kurupati *et al.*, 2004), Elle peut coloniser différentes parties du corps humain, notamment le tractus gastro-intestinal, les voies respiratoires, la bouche et la peau. En tant qu'agent pathogène opportuniste, *K. pneumoniae* est souvent associée aux infections nosocomiales, telles que les infections sanguines, les infections urinaires et la pneumonie (Naif *et al.*, 2023). La sévérité de ces infections est liée principalement à son pouvoir pathogène puissant (Carrère et Nordmann, 2011). *K.pneumoniae* présente des polysaccharides qui sont exposés à sa surface et synthétisés sous la forme d'antigènes O (lipopolysaccharide, LPS) et d'antigènes K (polysaccharide capsulaire, CPS). Ces composants polysaccharidiques sont caractéristiques de *K. pneumoniae* et jouent un rôle important dans son identification et sa virulence (Follador *et al.*, 2016).

### 1.1.3 *Enterobacter cloacae*

Les caractères biochimiques de cette espèce sont les suivants : absence d'uréase et d'H<sub>2</sub>S, présence de nitrate réductase., utilisation de citrate comme source de carbone et d'énergie, production d'ornithine décarboxylase et absence de production de lysine décarboxylase et d'indole à partir de tryptophane (Hadar *et al.*, 1983 ; Zaid *et al.*, 2011). Concernant les caractères culturels, les colonies de cette espèce ont une forme bombée et une teinte crème, mesurant environ 2 à 3 mm de diamètre (Zaid *et al.*, 2011).

*Enterobacter cloacae* est une bactérie présente dans l'environnement, notamment dans le sol et les eaux usées et en tant que flore commensale du tractus gastro-intestinal humain. Elle peut être considérée comme un agent pathogène potentiel pour les plantes, les insectes et les humains (Akbari *et al.*, 2016).

*E. cloacae* est généralement associée à des infections liées aux soins, elle envahit la flore intestinale des patients hospitalisés, entraînant ainsi des épidémies ou une transmission entre les patients. Cette espèce provoque plusieurs infections telles que des infections des voies respiratoires et urinaires, des infections intra-abdominales, des endocardites, des infections

oculaires, des ostéomyélites, des arthrites septiques et des bactériémies. Elle peut occasionner aussi des pneumonies, des abcès cérébraux ou des méningites (Mezzatesta *et al.*, 2012).

#### 1.1.4 *Proteus*

Les *Proteus* sont caractérisés par leur uréase très active, la production d'une gélatinase et de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S). Elles ont la capacité de réduire les nitrates en nitrites et de produire l'ornithine décarboxylase (Ghaidaa *et al.*, 2016). Elles se déplacent à l'aide de flagelles qui leur confèrent une mobilité de type swarming (Buckle, 2015). *Proteus* se développe et se différencie en cellules essaimées et progresse en tant que population sur une surface de gélose (Schaffer et Pearson, 2015).

Ces espèces font partie de la flore bactérienne naturelle présente dans le tractus intestinal de l'homme et des animaux et elles sont également présentes dans l'environnement, notamment dans le sol et l'eau, où leur présence est généralement considérée comme résultant d'une contamination fécale (Girlich *et al.*, 2020). Ils sont polymorphes et mesurent de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1 à 80 µm de longueur (Abbott, 2011).

Les bactéries du genre *Proteus* sont considérées comme des agents pathogènes opportunistes capables de causer des infections des voies urinaires lorsque les conditions sont favorables. Ces infections sont souvent associées à des troubles urinaires complexes. Les espèces de ce genre ont tendance à affecter principalement les voies urinaires supérieures, qui sont un site courant d'infection. Les manifestations les plus courantes comprennent la formation de calculs rénaux ou vésicaux (lithiase urinaire), la cystite et la pyélonéphrite aiguë. Dans de rares cas, des bactériémies peuvent être associées aux infections urinaires. D'autres types d'infections provoquées par *Proteus* comprennent des infections de plaies, des méningites chez les nouveau-nés ou les nourrissons, ainsi que la polyarthrite rhumatoïde (Ghaidaa *et al.*, 2016).

#### 1.1.5 *Providencia*

*Providencia* se distingue par l'incapacité de fermenter le lactose. Elle donne des réactions négatives aux tests Voges-Proskauer et lysine décarboxylase. Cependant, elle donne une réaction positive au test du citrate, d'indole et de nitrate réductase. Le test du rouge de méthyle est également positif (O'Hara *et al.*, 2000). Les colonies de *Providencia* se caractérisent par leur forme ronde et leur texture lisse avec des bords réguliers. Il convient de noter que le phénomène de swarming est observé chez environ 20% des souches.

Le genre *Providencia* appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, se trouve dans plusieurs réservoirs animaux et souvent dans le sol et les eaux usées. Il comporte plusieurs

espèces notamment *Providencia stuartii* et *Providencia rettgeri* (Fisher ,2009 ; O'Hara *et al.*,2000).

Les espèces appartenant au genre *Providencia* appartiennent à la flore normale du tube digestif de l'homme. Certaines sont responsables des infections liées aux soins et sont connues comme des agents pathogènes opportunistes tels que *Providencia stuartii* et *Providencia alcalifaciens* (O'Hara *et al.*,2000). Elles sont responsables d'une variété d'infections, notamment les infections des plaies, les septicémies, les maladies entériques et les infections des voies urinaires (Ovchinnikova *et al.*,2013 ; Shah *et al.*,2019).

## 1.2 Les bacilles à Gram négatif non fermentaires

### 1.2.1 *Acinetobacter baumannii*

*Acinetobacter baumannii* est caractérisée par son mode respiratoire strictement aérobie, non fermentaire, non pigmentée et dépourvue de flagelles. Elles sont caractérisées par la présence de catalase. Les tests de l'arginine dihydrolase, de nitrate réductase, d'oxydase, de la gélatinase, de l'hémolyse, de la décarboxylation de lysine et de l'ornithine sont négatifs. Elles utilisent le glucose, le mannose, le galactose, le xylose, l'arabinose sans production du gaz mais elle ne fermente pas le lactose (Denis *et al.*,2016).

*Acinetobacter baumannii* est une bactérie qui présente une croissance rapide et facile sur les milieux de culture usuels, formant des colonies arrondies à bords lisses et réguliers en seulement 24 heures. De plus cette bactérie peut également se cultiver sur les milieux sélectifs comme MacConkey et Drigalski (Jean-Noël et Guy,2006). Un aspect notable de ces bactéries est leur capacité à croître à une température élevée de 44 °C (Hidri,2012).

Les *Acinetobacter baumannii* sont de forme coccobacilles, immobiles. Ce sont des bactéries ubiquitaires, présentent principalement dans des environnements humides, essentiellement dans l'eau et le sol (Garlantézec *et al.*, 2011). La transmission de cette espèce aux patients se produit à partir de surfaces inertes, d'équipements de ventilation mécanique ou par le personnel soignant qui est porteur de cette espèce (transmission manuelle) (Mellouli *et al.*,2021).

*A. baumannii* est un pathogène opportuniste responsable de diverses infections associées aux soins tels que les septicémies et les infections pulmonaires, en particulier chez les patients hospitalisés en soins intensifs (Marti *et al.*,2011). Cette bactérie peut persister sur les surfaces abiotiques, les équipements médicaux et les dispositifs hospitaliers pendant plusieurs jours grâce à sa capacité d'adaptation élevée (Gaddy et Actis, 2009 ; Tomaras *et al.*,2003).

### 1.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie présentant une coloration bleu-vert distinctive. Ces cultures produisent généralement des pigments de pyocyanine et de pyoverdine, conférant à la bactérie son aspect caractéristique et son odeur aromatique (Lister *et al.*, 2009 ; Monteil et Harf-Monteil, 2002). Cette espèce se cultive sur les milieux ordinaires ainsi que sur plusieurs milieux sélectifs comme gélose MacConkey, gélose Drigalski et gélose cétrimide (Delarras, 2007 ; Denis *et al.*, 2016). Cette dernière est un milieu sélectif spécifique pour l'espèce *P. aeruginosa* après incubation à 42°C pendant 48h. Les colonies caractéristiques de cette espèce ont une taille de 1 à 3 µm de long et 0,5 à 0,8µm de large (Hafiane et Ravaoarino, 2008).

Les propriétés biochimiques de *Pseudomonas aeruginosa* incluent une réaction négative à l'indole, Voges-Proskauer négatif, gélatine positive, utilisation de citrate comme source de carbone et d'énergie avec une présence de catalase et d'oxydase (Chelliah *et al.*, 2006). *Pseudomonas aeruginosa* est incapable d'utiliser les disaccharides lactose, saccharose et maltose (Lory et Tai, 1985).

*Pseudomonas aeruginosa*, est une bactérie environnementale (sol et l'eau) mésophile, est capable de se développer dans une gamme de températures allant de +4°C à +45°C, avec une température optimale de croissance entre 30 et 37°C. Cette bactérie aérobie utilise un métabolisme oxydatif, mais en l'absence d'oxygène, elle est capable d'utiliser les nitrates comme accepteurs d'électrons pour assurer sa survie et sa croissance (Arai, 2011 ; Mielko *et al.*, 2019 ; Van Alst *et al.*, 2009).

*Pseudomonas aeruginosa*, c'est une bactérie largement répandue, est considérée comme un pathogène opportuniste, capable de causer des infections aiguës et chroniques. Elle est souvent identifiée comme agent responsable d'infections de l'oreille, d'infections cutanées chez les brûlés, de kératite cornéenne, infections du tractus urinaires, des infections du sang (bactériémie et/ou septicémie) ainsi que d'infections pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose et de pneumonie liée à la ventilation mécanique (Mielko *et al.*, 2019 ; Van Alst *et al.*, 2009).

### 1.2.3 *Stenotrophomonas maltophilia*

Les *Stenotrophomonas maltophilia* ont été désignés auparavant sous les noms de *Pseudomonas maltophilia* ou *Xanthomonas maltophilia*. Elles ont une taille légèrement plus petite par rapport aux autres espèces du genre *Stenotrophomonas*. Elles peuvent se déplacer

grâce à leurs flagelles polaires (Adegoke *et al.*, 2017). Cette bactérie est connue pour sa capacité à produire un pigment brun distinctif lorsqu'elle est cultivée sur une gélose ordinaire (Denis *et al.*, 2016). Elle a également la capacité de pousser sur des milieux sélectifs comme MacConkey et Drigalski (Jean-Noël et Guy, 2006).

*Stenotrophomonas maltophilia* est une bactérie aérobie strict capable d'oxyder le glucose et le maltose mais elle ne les fermente pas. Elle est caractérisée par la présence du catalase, lysine décarboxylase. Elle est capable de réduire le nitrate en nitrite et d'utiliser le citrate comme source de carbone et d'énergie (Adegoke *et al.*, 2017).

Les habitats naturels de *S.maltophilia* comprennent les milieux aquatiques, comme les rhizosphères végétales, les animaux, les aliments et les sources d'eau (Brooke, 2012).

*Stenotrophomonas maltophilia* est une bactérie pathogène environnemental opportuniste (Brooke, 2021). Elle est normalement inoffensive chez les individus en bonne santé, mais elle présente un risque élevé de morbidité et de mortalité chez les personnes fortement immunodéprimées et affaiblies (An et Berg, 2018). Cette espèce a été identifiée comme la cause de plusieurs types d'infections tels que, les infections des plaies, infections oculaires, infections liées à la mucoviscidose, infections des voies urinaires et des infections respiratoires. Elle a également été associée à la septicémie, les infections de la peau, des tissus mous et à la méningite et a été diagnostiqué dans de rares cas de pyomyosite (Adegoke *et al.*, 2017).

#### 1.2.4 *Burkholderia cepacia*

*Burkholderia cepacia* est une bactérie non sporulante qui se propulse grâce à des flagelles polaires multitriches. Cette espèce peut se cultiver sur les milieux ordinaires à 30 °C en 48 heures (Denis *et al.*, 2016) et sur les milieux sélectifs BD Cepacia et BD OFPBL. Les colonies typiques de *B. cepacia* présentes dans le milieu BD Cepacia apparaissent jaune pâle à rose entourées de zones de couleur rose à rose-rouge. Sur la BD OFPBL Agar (Oxidation/Fermentation-Polymyxin-Bacitracin-Lactose), les colonies typiques de *B. cepacia* apparaissent transparentes à jaunes limitées de zones de couleur jaune (Dickinson, 2003).

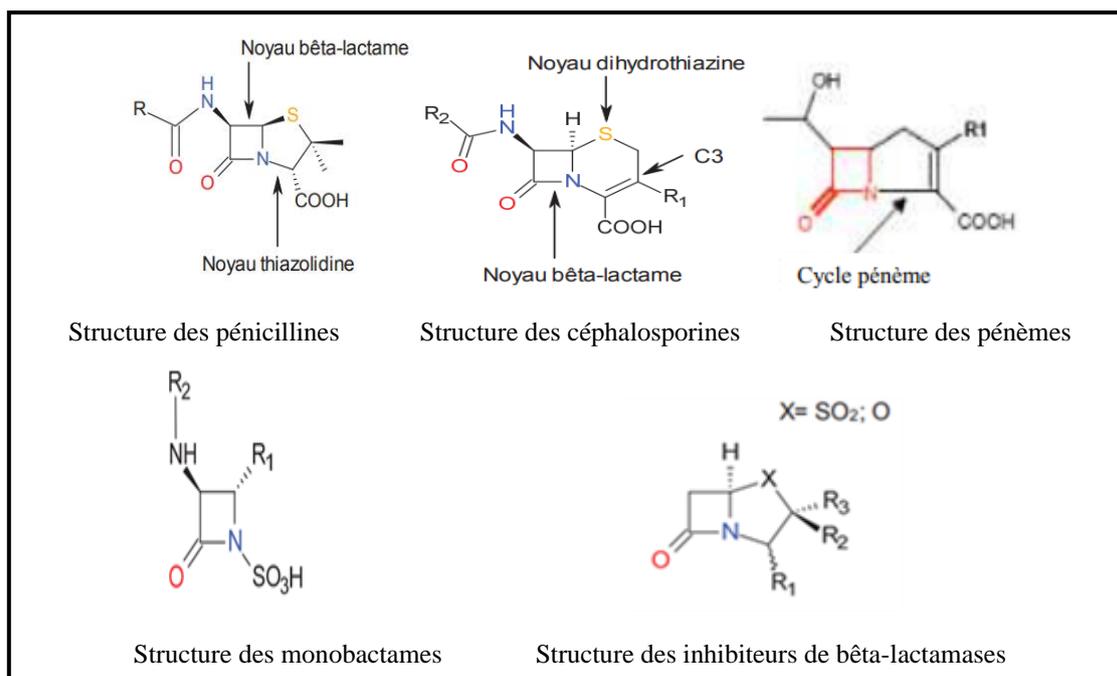
Les bactéries appartenant au complexe *Burkholderia cepacia* sont aérobies strictes, caractérisées par la présence de la catalase et de l'oxydase, d'indole, d'H<sub>2</sub>S et l'utilisation du citrate. D'autres part, les tests d'uréase, de Voges Proskauer et de rouge de méthyles sont négatifs et elles ne fermentent pas le glucose et le lactose (Alnasrawy et Al-ammar, 2021 ; Pegues, 2017).

Cette bactérie se retrouve naturellement dans différents environnements humides et aquatiques, y compris l'eau potable des établissements de soins de santé (Alnasrawy et Al-ammam, 2021 ; Bennett *et al.*, 2015).

Le complexe *Burkholderia cepacia* (Bcc) est constitué de multiples espèces bactériennes qui peuvent causer des infections respiratoires, des pneumonies et des bactériémies graves chez les patients, en particulier ceux qui sont immunodéprimés, les nourrissons et les personnes âgées. Cependant, les personnes immunocompétentes ont généralement peu de risque de développer une infection respiratoire par le Bcc (Buckle, 2015 ; Tavares *et al.*, 2020).

## 2. Carbapénèmes

Les carbapénèmes sont des antibiotiques appartenant à la classe des pénèmes qui fait partie de la famille des  $\beta$ -lactamines. Toutes Les molécules  $\beta$ -lactamines se caractérisent par la présence d'un noyau de base nommée le noyau  $\beta$ -lactame, associé avec un noyau latéral qui détermine les différentes classes des  $\beta$ -lactamines, comprennent les pénames (pénicillines), les céphèmes (céphalosporines), les monobactames, Les inhibiteurs de bêta-lactamases et les pénèmes (figure 1) (Cavallo *et al.*,2004).



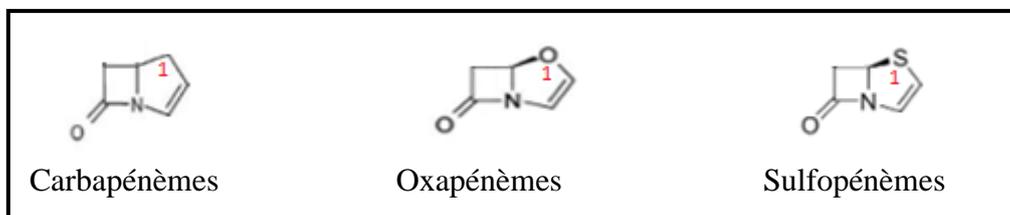
**Figure 1. Les différentes structures de base des classes de  $\beta$ -lactamines (Chemelle, 2010 ; Choquet, 2016).**

### 2.1 Définition et structure chimique

Les pénèmes sont définis par la présence d'un noyau penta-atomique insaturé lié au noyau  $\beta$ -lactame. Selon l'hétéroatome fixé en position 1 on distingue trois groupes qui sont : les sulfopénèmes, les oxapénèmes et les carbapénèmes (figure 2) (Bryskier, 1999 ; Zhanel *et al.*,2007). Les carbapénèmes sont la classe d'antibiotiques la plus vigoureuse qui a fait ses preuves en termes d'efficacité dans le traitement des infections graves à bactéries à Gram négatif (Touati et Mairi, 2019).

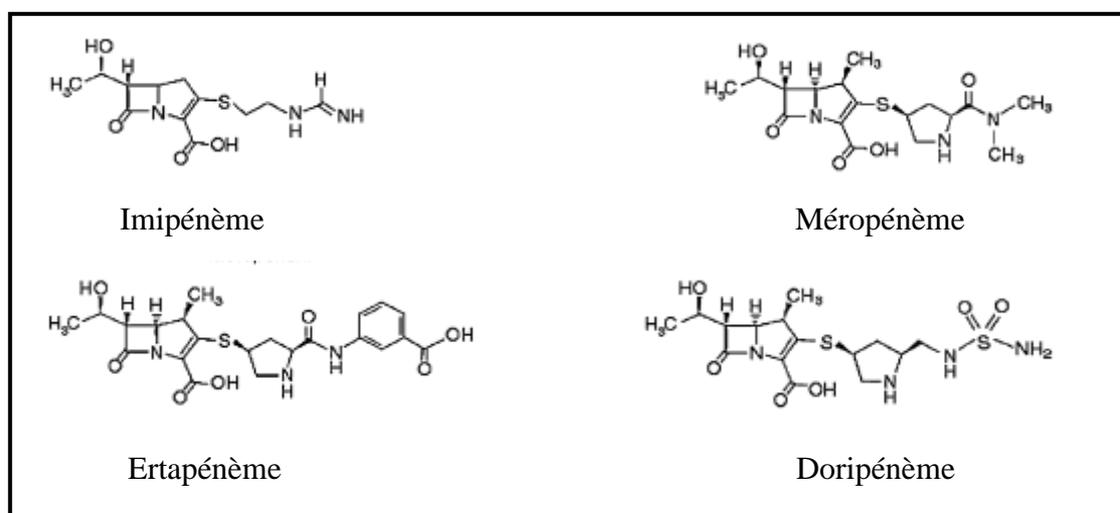
Les carbapénèmes peuvent être naturels ou semi-synthétiques, obtenus à partir des micro-organismes du sol *Streptomyces cattleya* (Wolff *et al.*, 2008). Ces antibiotiques se différencient des pénicillines par un atome de carbone en position 1 plutôt qu'un atome de

soufre, et une liaison insaturée en C2-C3, similaire à celle présente dans les céphalosporines (Papp-Wallace *et al.*, 2011).



**Figure 2. Structure des pénèmes (Brenek *et al.*, 2012 ; Jamieson *et al.*, 2003 ; Wolff *et al.*, 2008).**

Les carbapénèmes possèdent un très large spectre antibactérien et sont connus pour leur grande stabilité contre la plupart des  $\beta$ -lactamases (Touati et Mairi, 2019). Quatre molécules sont actuellement disponibles sur le marché (figure 3) : l'imipénème depuis 1980 (wolff *et al.*, 2008), le méropénème depuis 1994 (Linden, 2007), l'ertapénème depuis 2001 (El-Gamal *et al.*, 2017) et le doripénème depuis 2007 (Redman et File, 2009).



**Figure 3. Structure des carbapénèmes (Wolff *et al.*, 2008).**

## 2.2 Mécanisme d'action des carbapénèmes

Les carbapénèmes ont le même mécanisme que l'ensemble des antibiotiques appartenant à la famille des  $\beta$ -lactamines. Ils agissent sur les deux dernières étapes de la synthèse de peptidoglycane, polymère majeur des parois de toutes les bactéries à Gram positif et négatif (Cavallo *et al.*, 2004).

L'acide N-acétylmuramique (NAM) et la molécule N-acétylglucosamine (NAG) forment la partie glucidique de peptidoglycane. Cette structure est fortifiée par une partie peptidique qui est représentée par une chaîne de 4 acides aminés liée à l'acide N-acétylmuramique (Nicolas *et al.*, 2002). La composition de ces chaînes dépend de type de la bactérie (Garcia-del Portillo, 2020).

Les deux dernières étapes de la synthèse se fait par la glycosyltransférase qui accélère la formation des liaisons de la chaîne polysaccharidique linéaire et la transpeptidase qui est responsable de la réticulation du peptidoglycane par la formation des ponts interpeptidiques (Cavallo *et al.*, 2004).

Les carbapénèmes pénètrent dans l'espace périplasmique de la bactérie à travers les protéines spécifiques appelés les porines et agissent par similarité structurale avec le substrat naturel (D-Ala-D-Ala) du PLPs qui sont des protéines liant la pénicilline considérée comme les sites actifs des transpeptidases en inhibant la synthèse du peptidoglycane (effet bactériostatique). L'action bactéricide des carbapénèmes consiste à induire l'action du système autolytique (les muréine-hydrolases) qui provoque la lyse subséquente de la bactérie sans qu'une étape de filamentation préalable soit nécessaire. Cela peut également réduire la libération d'endotoxine par les bacilles à Gram négatif (Cavallo *et al.*, 2004 ; Wolff *et al.*, 2008).

Les carbapénèmes ciblent principalement les PLP1a, 1b et 2, elles sont différentes des céphalosporines et des aminopénicillines qui se lient principalement au PLP3 (Wolff *et al.*, 2008). Le lien des carbapénèmes avec les différentes protéines de liaison des pénicillines (PLP) varie selon la molécule, ce qui explique en partie les différences dans leur activité. Par exemple, l'imipénème se lie préférentiellement au PLP2, suivi de PLP 1a et 1b. Cependant il a une faible affinité pour la PLP3. Le méropénème et l'értapénème ont une forte affinité pour la PLP2 et la PLP3 et également pour les PLP1a et 1b. L'affinité du doripénème pour les différentes PLP dépend de l'espèce bactérienne exemples : PLP3 chez *Pseudomonas aeruginosa* et PLP2 chez *Escherichia coli* (Jones *et al.*, 2004 ; Zhanel *et al.*, 2007).

### 2.3 Spectre d'action des carbapénèmes

Les carbapénèmes sont efficaces contre une large gamme de bactéries à Gram négatif et à Gram positif (Zhanel *et al.*, 2007). Concernant les bacilles à Gram négatif, ces antibiotiques occupent une place très importante dans le traitement des infections dues aux entérobactéries productrices des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et/ou des céphalosporinases de haut niveau codé par des gènes chromosomiques ou des gènes plasmidiques et aux BGN non fermentaires multirésistantes sensibles qu'aux carbapénèmes. Cependant, l'ertapénème a une activité limitée sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, ce qui rend son utilisation clinique limitée (Grall *et al.*, 2011 ; Nordmann, 2010).

Les carbapénèmes sont inefficaces contre *Stenotrophomonas maltophilia*, qui produit naturellement une métallo-bêta-lactamase et elles sont également inefficaces contre *Enterococcus faecium*. Cependant, l'imipénème peut avoir une activité contre *Enterococcus faecalis* (Grall *et al.*, 2011).

### 2.4 Résistance des bacilles Gram négatif aux carbapénèmes

La résistance aux carbapénèmes par les bacilles à Gram négatif est due à l'utilisation de divers mécanismes naturels ou acquis, parmi lesquels l'imperméabilité de leur membrane externe, l'activation de pompes à efflux, L'association de l'expression de céphalosporinases et une diminution de perméabilité, mais le mécanisme le plus important est la résistance enzymatique qui est inquiétante par le fait que les gènes codant pour ces enzymes sont situés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons, intégrons) permettant une dissémination rapide (Aslam *et al.*, 2020 ; Grall *et al.*, 2011).

#### 2.4.1 Résistance enzymatique aux carbapénèmes

Les bacilles à Gram négatif résistent le plus souvent aux carbapénèmes par production d'enzymes inactivatrices appelées carbapénémases. Elles ont un fort pouvoir hydrolytique contre les carbapénèmes. Cette forme de résistance cause un problème inquiétant dans le monde (Nordmann, 2010).

Selon la classification d'Ambler ces enzymes appartiennent aux classes A, B et D de  $\beta$ -lactamases (Grall *et al.*, 2011 ; Nordmann, 2010).

##### 2.4.1.1 Les carbapénémases de classe A

Cette classe de carbapénémases hydrolysent toutes les  $\beta$ -lactamines à intérêt clinique. Leur effet spectaculaire est dû à la présence de sérine en position 70 dans le site actif qui favorise

leur pouvoir hydrolytique. Cependant, ces enzymes sont inhibées par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases comme le clavulanate et le tazobactam (Queenan et Bush ,2007).

La première carbapénémase de classe A identifiée, connue sous le nom de NMC-A, a été isolée chez une souche clinique d'*Enterobacter cloacae* (Poirel *et al.*, 2007). Cette classe comprend plusieurs familles telles que SME, IMI, NMC, GES et KPC. Parmi celles-ci, les carbapénémases KPC sont les plus répandues dans le monde et sont principalement retrouvées sur les plasmides de *Klebsiella pneumoniae* (Nordmann, 2010 ; Queenan et Bush ,2007).

En Algérie, les KPC ont été également isolées chez des souches d'*E. coli* (Djahmi *et al.*, 2014) et chez des souches cliniques (Bakour *et al.*, 2015b ; Brahmia *et al.*, 2021) et animales (Gharout-Sait *et al.*, 2019) de *Klebsiella pneumoniae*.

#### 2.4.1.2 Les carbapénémases de classe B

Les carbapénémases de classe B, aussi connues sous le nom de Metallo- $\beta$ -lactamases (MBLs) sont caractérisées par la présence d'un ion de zinc dans leur site d'action (Dortet *et al.*, 2013).

Ces enzymes possèdent une forte activité hydrolytique envers la plupart des  $\beta$ -lactamines, y compris les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénèmes, sauf l'aztréonam. De plus, elles ne sont pas hydrolysables par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases, mais inhibées par des chélateurs des ions divalents tels que l'EDTA (Dortet *et al.*, 2013).

Les MBLs les plus couramment identifiées dans le monde entier sont les VIM et NDM (Ewa *et al.*, 2016). Ces enzymes ont été détectés également en Algérie en particulier dans le milieu hospitalier comme VIM-19 chez *Providencia stuartii*, *E.coli* et *Klebsiella pneumoniae* (Robin *et al.*, 2010), NDM-1 chez *Acinetobacter.baumannii* (Boulangier *et al.*, 2012), VIM-2 chez *Pseudomonas aeuroginosa* (Touati *et al.*, 2013) et NDM-5 chez *E.coli* (Touati et Mairi, 2019).

#### 2.4.1.3 Les carbapénémases de classe D

Ces enzymes sont des oxacillinases. Les oxacillinases à activité carbapénémase ont une capacité limitée ou nulle à hydrolyser les céphalosporines à large spectre (telles que la céfotaxime, la ceftazidime et la céfépime) ainsi que l'aztréonam. Leur activité carbapénémase est faible et n'est pas inhibée par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases ni par l'EDTA. Cependant, in vitro, leur activité carbapénémase peut être inhibée par le NaCl (Dortet *et al.*, 2013).

Parmi les carbapénémases de classe D, OXA 48 fait partie des carbapénémases les plus courantes (Hirvonen *et al.*, 2021), elle est découverte pour la première fois chez une souche de *K. pneumoniae* en Turquie 2003 (Grall *et al.*, 2011 ; Poirel *et al.*, 2004). Ce type a connu une diffusion rapide dans les pays du pourtour méditerranéen, y compris en France, en Grande-Bretagne et en Argentine (Nordmann, 2010). En Algérie OXA 48 a été détectée chez *K.pneumoniae* en milieu hospitalier (Aggoune *et al.*, 2014), chez *Enterobacter cloacae* d'origine alimentaire (Loucif *et al.*, 2018) et chez des souches communautaires d'*E.coli* et de *K. pneumoniae* (Bourafa *et al.*, 2018).

Chez *A. baumannii* OXA-23 et OXA-58 sont parmi les variants les plus détectés dans le monde (Medeiros et Lincopan, 2013). Ces variants sont également les plus détectés en Algérie chez cette espèce (Bakour *et al.*, 2012 ; Brahmi *et al.*, 2016)

#### 2.4.2 Imperméabilité

La résistance aux carbapénèmes peut être due à la diminution ou à la perte de l'expression des gènes qui codent pour les porines, par des mutations dans les gènes chromosomiques de porines tels que OprD qui contribuent à une modification d'une boucle de contrôle ou d'un canal central dans les protéines porines. Les porines se trouvent dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif sous forme des canaux non spécifiques ou spécifiques qui facilitent le transport passif de petites molécules hydrophiles, de nutriments et/ou même de certains antibiotiques notamment les carbapénèmes (Nordmann et Poirel , 2019, Nordmann *et al.*, 2012).

*P. aeruginosa* implique une mutation qui inactive le gène codant la protéine D2 appelé oprD2. La perte de cette porine de la membrane externe entraîne une résistance de haut niveau à l'imipénème et une sensibilité réduite variable au méropénème et doripénème (Barbier et Wolff, 2010).

#### 2.4.3 Pompe d'efflux

Dans le cas de la résistance aux carbapénèmes, la surexpression des pompes d'efflux qui expulsent les carbapénèmes, principalement le méropénème, peut entraîner une résistance aux carbapénèmes associée à une multirésistance (MDR). Cette résistance consiste à l'éjection active des carbapénèmes après leur entrée dans l'espace périplasmique. Ce processus est réalisé par des systèmes de pompes d'efflux tripartite qui sont constituées d'un transporteur de protéines de la membrane cytoplasmique, d'une porine de la membrane externe et d'une protéine

conjonctive périplasmique. Les pompes à efflux ont besoin d'énergie sous forme de force motrice de protons pour éliminer les carbapénèmes hors de la cellule bactérienne (Meletis, 2016).

La surexpression de la pompe d'efflux AcrAB-TolC, codée par *acrA* et *acrB*, est responsable de la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries (Adler *et al.*, 2016 ; Chetri *et al.*, 2020). Chez *Escherichia coli*, la résistance à plusieurs antibiotiques est souvent attribuée à la présence de plusieurs systèmes de pompe à efflux qui aident à éliminer les carbapénèmes (Chetri *et al.*, 2019). Chez *Pseudomonas aeruginosa*, la surproduction des systèmes d'efflux peut entraîner une résistance aux carbapénèmes, à l'exception de l'imipénème (Poole, 2011).

#### **2.4.4 L'association de l'expression de céphalosporinases et une diminution de perméabilité**

Il existe un autre mécanisme de résistance aux carbapénèmes qui implique à la fois l'expression de céphalosporinases et une diminution de la perméabilité de la membrane externe des bactéries. Cette résistance est due à la surexpression de céphalosporinases chromosomiques, combinée à une modification de la perméabilité de la membrane externe, qui altère les porines de type OmpC et OmpF. Ce mécanisme a été identifié chez les bactéries à Gram négatif telles que les *Enterobacter spp.* Des mécanismes de résistance identiques ont été observés chez *Serratia spp.*, *Citrobacter freundii* et *Morganella morganii* (Nordman, 2010).

Des résistances aux carbapénèmes ont été constatées chez certaines espèces d'entérobactéries telles que *E. coli*, *K. pneumoniae* et *Salmonella spp.*, qui n'expriment pas naturellement la céphalosporinases, mais qui ont acquis des gènes codant pour des céphalosporinases plasmidiques (Nordman, 2010).

### 3. La colistine

#### 3.1 Structure chimique

La colistine, est un antibiotique de la famille des polymyxines, elle est produite par la bactérie du sol *Bacillus polymyxa*. Elle possède une structure cyclique et une chaîne latérale composée d'un tripeptide acylé par une chaîne d'acide gras à l'extrémité N-terminale (figure 4). La présence de résidus d'acide  $\alpha,\gamma$ -diaminobutyrique (Dab) confère une charge positive à la colistine, ce qui lui permet de se lier fortement aux molécules anioniques (Chackalamannil *et al.*, 2017 ; Falagas *et al.*, 2005).

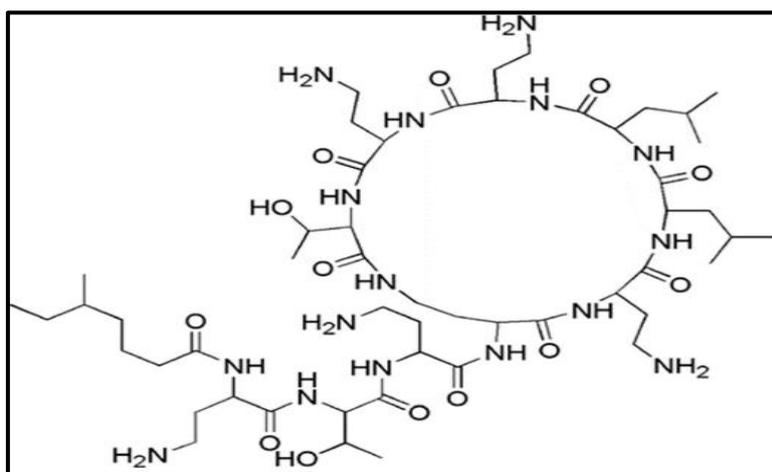


Figure 4. Structure de la colistine (Alfei et Schito, 2020).

#### 3.2 Mécanisme d'action

La colistine interagit au niveau de lipopolysaccharide (LPS) des bactéries à Gram négatives et plus précisément sur le lipide A qui est un élément clé de la perméabilité bactérienne et de l'échange entre la cellule bactérienne et son environnement extérieur. Une interaction électrostatique entre les groupes phosphate chargés négativement du lipide A et la colistine qui est sous forme d'acide L-diaminobutyrique chargé positivement. La colistine exerce une compétition sur les cations divalents de calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et de magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) en les déplaçant, entraînant ainsi des modifications de la structure tridimensionnelle du LPS. Cette interaction permet à la chaîne grasse acyle terminale hydrophobe de la colistine de s'insérer dans la monocouche de la membrane externe, provoquant une expansion de cette dernière (Andrade *et al.*, 2020 ; Dortet *et al.*, 2016).

La colistine a pour effet de rendre la membrane externe de la bactérie plus perméable, ce qui permet à la colistine de la traverser plus facilement. Chez les bactéries à Gram-négatif, la bicouche phospholipidique de la membrane interne est altérée par la colistine, par

l'intégration des groupes hydrophiles dans les chaînes d'acides gras ce qui conduit à la destruction de la bactérie en ne pouvant pas maintenir son contenu cellulaire. En se liant au lipide A, la colistine est également capable d'exercer une activité anti-endotoxine en bloquant l'induction de choc par l'endotoxine. En fin de compte, la colistine solubilise la membrane cellulaire bactérienne, ce qui entraîne un effet bactéricide (Andrade *et al.*, 2020).

### 3.3 Spectre d'action

La colistine a un spectre d'action étroit. Elle n'est pas active contre les bactéries à Gram positif en raison de l'absence de la membrane externe contenant les LPS (World Health Organization, 2018).

La colistine agit contre tous les pathogènes à Gram négatif qui sont souvent responsables d'infections potentiellement mortelles sauf certaines bactéries telles que *Proteus*, *Neisseria*, *Serratia marcescens*, *Providencia*, *Burkholderia cepacia*, *Morganella morganii*, *Edwardsiella spp* (El-Sayed *et al.*, 2020). Qui résistent naturellement par des mutations chromosomiques qui induit la modification du lipide A des LPS (Biswas *et al.*, 2012 ; Dortet *et al.*, 2016).

### 3.4 Résistance des bacilles à Gram négatif à la colistine

En raison des caractéristiques de son mécanisme d'action, toute modification du LPS, qui est la cible de la colistine, peut altérer l'efficacité de cette dernière (Andrade *et al.*, 2020). La plupart des mécanismes de résistance des bacilles à Gram négatif identifiés impliquent des altérations du lipide A du LPS dans la membrane externe par l'ajout des résidus chargés positivement avec la diminution de sa charge négative entraînant la répulsion de la colistine (Dortet *et al.*, 2016). Ce mécanisme de résistance étaient principalement attribués à des mutations ponctuelles chromosomiques chez certaines bactéries telles que *Proteus mirabilis* et *Burkholderia cepacia* (Kipnis et Guery, 2010).

En novembre 2015, Liu et al. ont signalé pour la première fois l'identification d'un gène plasmidique appelé *mcr-1* qui code pour une phosphoéthanolamine transférase responsable de l'acquisition de résistance à la colistine par la modification de lipide A qui a été isolée chez plusieurs souches d'*E. coli* et une souche de *K. pneumoniae* provenant d'origines animales et humaines (Dortet *et al.*, 2016 ; Hu *et al.*, 2016).

En Algérie, deux variants de gènes *mcr* ont été décrits. Le gène *mcr-1* chez des souches cliniques d'*Escherichia coli* (Berrazeg *et al.*, 2016 ; Nabti *et al.*, 2019), chez des souches animales d'*E. coli* (Bachiri *et al.*, 2018 ; Chaalal *et al.*, 2021 ; Loucif *et al.*, 2022), chez des souches de l'environnement (Drali *et al.*, 2018 ; Berrazeg *et al.*, 2019 ; Cherak *et al.*, 2022) et chez des souches d'*E. coli* isolées des légumes (Chelaghma *et al.*, 2022). Le variant *mcr-8* a été détecté une seule fois chez des souche cliniques de *K. pneumoniae* (Nabti *et al.*, 2020)

D'autres mécanismes de résistance acquise à la colistine ont été rapportés, indépendants de son mécanisme d'action et avec une incidence clinique incertaine. Parmi eux, on peut citer une pompe à efflux chez certaines souches du genre *Yersinia spp* (Kipnis et Guery, 2010).

*MATÉRIEL*

*ET*

*MÉTHODES*

## 1. Matériel

### 1.1. Souches étudiées

Un total de 54 bacilles à Gram négatifs, isolé entre Mars et Mai 2023 de différents services du CHU de Tlemcen, a fait l'objet de notre étude.

### 1.2 Milieux de culture

#### 1.2.1 Milieux de culture liquides

- Bouillon nutritif (BN)
- Mueller Hinton liquide

#### 1.2.2 Milieux de culture solides

- MacConkey
- Gélose au cétrimide
- Gélose nutritive
- Mueller Hinton
- T.S.I
- Milieu ChromID CARBA SMART (Biomérieux)

### 1.3 Tests biochimiques

- Galerie API 20 E et API 20 NE
- Test d'oxydase (Cypress diagnostics)

### 1.4 Antibiotiques

#### 1.4.1 En disque

##### ▪ $\beta$ -lactamines

Pénicilline : ampicilline, amoxicilline + acide clavulanique, ticarcilline, ticarcilline + acide clavulanique, pipéracilline.

Céphalosporine : céfalotine (céphalosporine de 1 ère génération), céfoxitine (céphalosporine de 2 ème génération), ceftriaxone (céphalosporine de 3 ème génération), céfotaxime (céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération), ceftazidime (céphalosporine de 3 ème génération) et céfépime (céphalosporine de 4 ème génération).

Monobactam : Aztréonam.

Carbapénème : imipénème et méropénème.

Aminoside : gentamicine, tobramycine et kanamycine.

Quinolone : acide nalidixique, ofloxacin et ciprofloxacine (fluoroquinolone).

La charge des disques et les valeurs critiques des antibiotiques sont présentées en annexe 4.

### 1.4.2 En poudre

- Ertapénème
- Colistine

## 2. Méthodes

### 2.1 Lieu d'étude

Durant la période d'étude, entre Mars et Mai 2023, Cinquante prélèvements ont été réalisés au niveau du CHU de Tlemcen, provenant de deux services différents : la réanimation et la néonatalogie. Ces prélèvements ont été analysés au niveau de laboratoire de microbiologie (LAMAABE) de l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen.

### 2.2 Prélèvement

Plusieurs prélèvements ont été réalisés à partir des patients hospitalisés (les cathéters, les sondes urinaires, sondes trachéales, sondes nasogastriques et les plaies) et à partir des surfaces les plus susceptibles d'être en contact avec les patients et le personnel dans les services sélectionnés par écouvillonnage. Les échantillons ont été transportés au laboratoire où ils ont été incubés à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures dans du bouillon nutritif.

### 2.3 Isolement et purification

Chaque tube positif de bouillon nutritif a été ensemencé sur deux boîtes de Petri. Une contenant le milieu MacConkey additionné de l'ertapénème à une concentration finale de 0.5 µg/ml et l'autre contenant le même milieu additionné de la colistine à une concentration finale de 2 µg/ml, pour isoler respectivement les bacilles à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes et à la colistine (Annexe 1).

Les colonies qui apparaissent sur les boîtes de sélection ont été ensuite purifiées en effectuant plusieurs passages sur milieu MacConkey à 37°C pendant 24 heures.

### 2.4 Identification

L'identification des bacilles à Gram négatif a été réalisée par le test de la gélose triple sucre-fer (TSI), le test d'oxydase et par Galeries API 20E et NE.

### 2.4.1 Test de la gélose triple sucre-fer (TSI) (Lehman, 2005)

La gélose TSI est un milieu de culture en tube qui permet de différencier les bactéries en fonction de leur fermentation du glucose, du saccharose et du lactose, ainsi que de leur production de sulfure d'hydrogène H<sub>2</sub>S et de détecter la production de gaz résultant du métabolisme des glucides. Elle est largement utilisée pour l'identification des Enterobacteriaceae, bien qu'elle puisse également être utile pour d'autres bactéries à Gram négatif.

Ce milieu a été ensemencé par une piqure centrale dans le culot et des stries serrées sur la pente ensuite incubé à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures. Le virage coloré du milieu indique la fermentation du glucose (jaunissement du culot) et du lactose et du saccharose (jaunissement de la pente). La production de gaz est détectée par le décollement de la gélose ou formation des trous. De plus le noircissement de milieu témoigne la production d'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S) par les bactéries.

### 2.4.2 Test d'oxydase (Denis *et al.*, 2016)

Ce test repose sur l'oxydation d'un réactif spécifique, l'oxalate N-diméthylphénylène-diamine, au contact du cytochrome présent dans les bactéries oxydase positives.

Une fraction de colonie de bactéries a testé a été déposée sur une bandelette d'oxydase (Cypress diagnostics). L'oxydation positive est indiquée par le virage immédiat de couleur vers le violet.

### 2.4.3 Galerie API

L'identification a été poursuivie par l'utilisation des galeries API20 E et des galeries API20 NE, qui permettent d'identifier les espèces bactériennes grâce à leurs profils biochimiques.

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne de 0.5 McFarland qui reconstitue les tests. La galerie API 20NE est aussi composée de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests correspondant à la recherche des enzymes sont inoculés avec une suspension bactérienne de 0.5 McFarland. Ensuite, 200 µl ont été transférés de cette suspension dans une suspension saline, conçue pour les plaques API 20NE, pour ensemencer les tests correspondant à la recherche de la fermentation des sucres.

Les réactions produites durant la période d'incubation (24h à 48h à 37°C) se manifestent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'ajout de réactifs.

La lecture de ces réactions est réalisée à l'aide du tableau de lecture (Annexe 2 et 3) et l'identification des souches est obtenue à l'aide du logiciel Bacterial Identification Program.

### 2.5 Conservation des souches

La conservation des souches a été effectuée dans des tubes de gélose incliné ou dans des tubes de gélose profonde à 4°C.

## 2.6 Étude de la sensibilité des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques

### 2.6.1 Antibiogramme (CA-SFM, 2022)

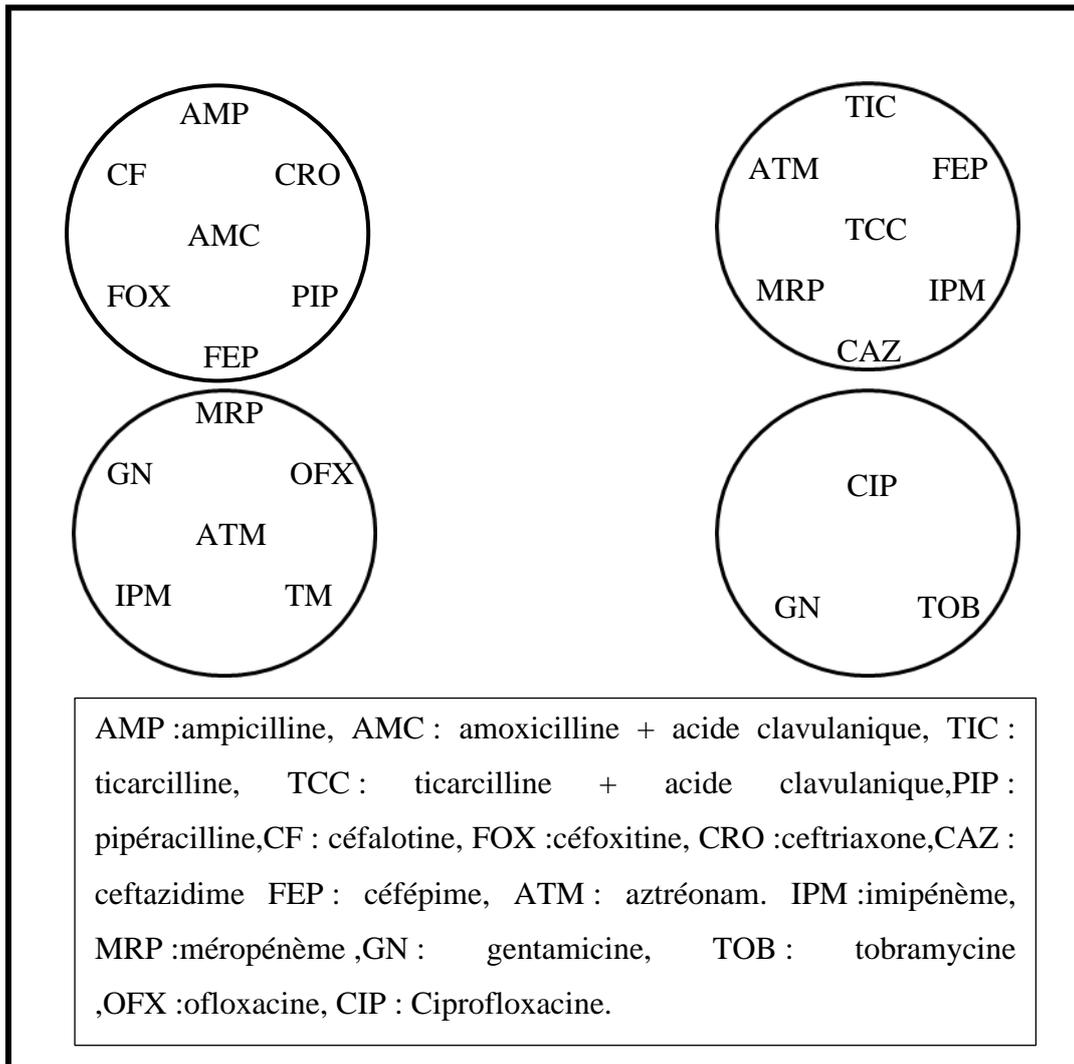
- **Principe**

L'antibiogramme est un examen biologique qui vise à évaluer l'interaction entre une souche bactérienne et différents antibiotiques. Il permet de déterminer si la souche est sensible, résistante ou intermédiaire à ces antibiotiques, ce qui est crucial pour guider le choix d'un traitement approprié.

- **Technique**

Le profil de sensibilité des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques a été établi en utilisant la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton selon le protocole suivant :

- Tremper un écouvillon stérile dans une suspension bactérienne d'une densité correspondant à un étalon de 0,5 McFarland ;
- Décharger l'écouvillon en le pressant fermement contre la paroi interne du tube et frotter la totalité de la surface gélosée en réalisant des stries serrées, en tournant la boîte de 60° à chaque fois pour répéter l'opération deux fois ;
- Appliquer manuellement les disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince stérile selon les schémas présentés dans la figure 5 ;
- Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.



**Figure 5. Schéma des antibiotiques.**

- **Lecture**

La lecture et l'interprétation des résultats de l'antibiogramme se font en mesurant les diamètres des zones d'inhibition en suivant les normes recommandées par le CA-SFM (2022) (Annexe 4).

## 2.6.2 Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI)

### 2.6.2.1 E Test (Joly-uillou, 2006)

La détermination des CMI par E Test a été réalisée pour l'ensemble des souches résistantes aux carbapénèmes, selon les résultats de sélection sur MacConkey + Ertapénème et les résultats de l'antibiogramme. Pour les entérobactéries, deux antibiotiques ont été testés : l'ertapénème et le méropénème. Pour les BGN non fermentaires seulement l'imipénème a été testé.

- **Principe**

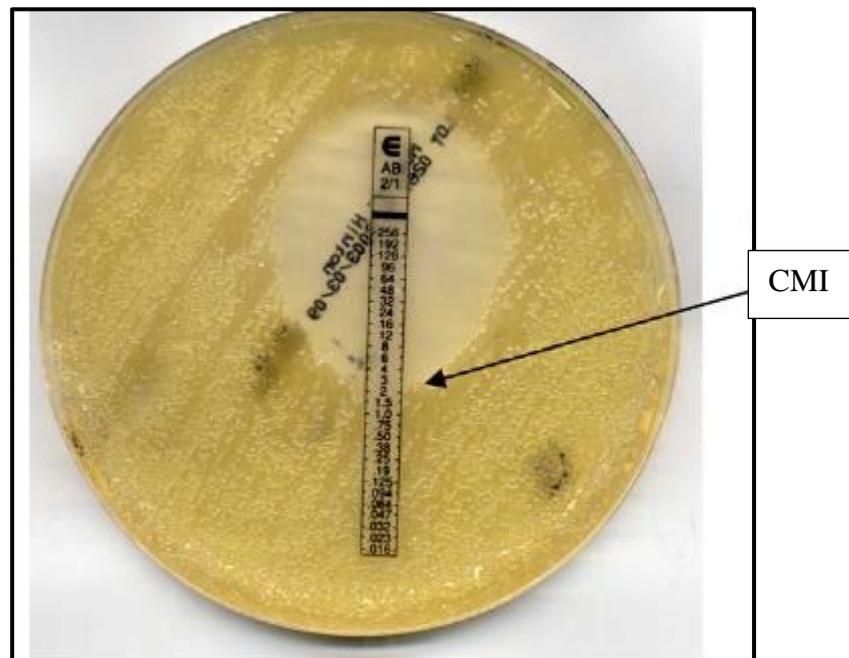
E test est une méthode in vitro innovante utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des antibiotiques. Elle permet d'obtenir des CMI quantitatives à partir des bandelettes de réactif portant un gradient de concentration continu de l'antibiotique stabilisé et séché.

- **Technique**

Une à deux bandelettes d'E-test (Biomérieux) sont déposées sur la gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée par une suspension bactérienne 0.5 McFarland. L'antibiotique se répartit selon un gradient de concentration très précis.

- **Lecture**

La lecture est réalisée après 24 heures d'incubation à 37 °C. Une ellipse d'inhibition de culture se dessine autour de la bandelette et la CMI correspond à la valeur lue à l'intersection de la culture bactérienne et de la bandelette (figure 6).



**Figure 6. Mesure de la CMI par méthode E-Test.**

### 2.6.2.2 CMI de la colistine en milieu liquide

Les CMI de la colistine ont été déterminées par microdilution sur microplaques pour toutes les souches qui ont poussé sur les boîtes de sélection contenant le MacConkey + la colistine, selon les recommandations de CA-SFM (2022).

- **Principe (Jehl *et al.*, 2015)**

La technique de microdilution manuelle en milieu liquide est considérée comme la méthode de référence pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des antibiotiques.

- **Technique**

- Une microplaque de 96 puits a été utilisée pour réaliser les CMI de la colistine ;
- Une solution de la colistine avec une concentration de 512 µg/ml a été préparée ;
- Dans la première colonne de la microplaque, colonne de témoin, 100µl de bouillon Mueller Hinton a été distribué ;
- Dans chaque ligne de la microplaque, a été déposé 50µl du bouillon Mueller Hinton ;
- 50 µl de l'antibiotique sont introduites dans le 2<sup>ème</sup> puits. Après avoir bien homogénéisé le contenu du 2<sup>ème</sup> puits une série de dilution est réalisée où 50µl sont prélevés, puis déposé dans le 3<sup>ème</sup> puits, et ainsi de suite jusqu'au 12<sup>ème</sup> puits où 50 µl restantes sont éliminés. Cela pour obtenir des dilutions en série de progression géométrique de raison ½ allant de 128 µg/ml au 0.25 µg/ml ;
- 50 µl de l'inoculum bactérien de 0.5 McFarland ont été ajoutés dans chaque puits sauf la colonne de témoin ;
- Les microplaques ont été scellées et incubées à 37°C pendant 18 à 24h.

- **Lecture**

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique où il n'y a pas de croissance bactérienne visible.

## 2.7 Etude des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines

### 2.7.1 Recherche de la production de carbapénémases par ChromID CARBA SMART (Lee, 2019).

- **Principe**

Le ChromID CARBA SMART, est une méthode de dépistage utilisant une biplaque contenant de la gélose chromID CARBA/OXA. La gélose chromID CARBA est spécifiquement conçue pour détecter les souches productrices de carbapénémases (CPE). La gélose chromID OXA est spécifiquement conçue pour détecter les souches productrices d'oxacillinases (carbapénémases de classe D) (figure 7).



**Figure 7. Boite de ChromID CARBA SMART.**

- **Technique**

Les bactéries résistantes aux carbapénèmes, selon les résultats de la sélection sur les boîtes de MacConkey+ Ertapénème et les résultats de l'antibiogramme, ont été ensemencées à l'aide d'une Öse sur la biplaque chromID CARBA SMART et incubées à une température de 37 °C pendant 22 à 24 heures.

- **Lecture**

La production de carbapénémases est révélée par une croissance bactérienne sur la partie chromID CARBA. Une croissance bactérienne aussi sur la partie chromID OXA signifie La production de carbapénémases de type oxacillinases.

### 2.7.2 Test de synergie (Sirot, 1996).

- **Principe**

Le test de synergie est une méthode de détection phénotypique de la production d'une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu (BLSE) qui est basé sur l'observation d'une synergie entre un disque de céphalosporine de troisième génération et l'acide clavulanique. Cette synergie témoigne la présence de BLSE qui sont inhibées par l'acide clavulanique,

- **Technique**

La technique consiste à placer des disques de ceftazidime, céfotaxime (C3G) et céfépime (C4G) de 2cm (centre à centre) d'un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC) sur la gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée par la souche à tester.

- **Lecture**

L'aspect dit « bouchon de champagne » indique que le test est positif.

*RÉSULTATS*

*ET*

*DISCUSSION*

## 1. Résultats

### 1.1 Prélèvements

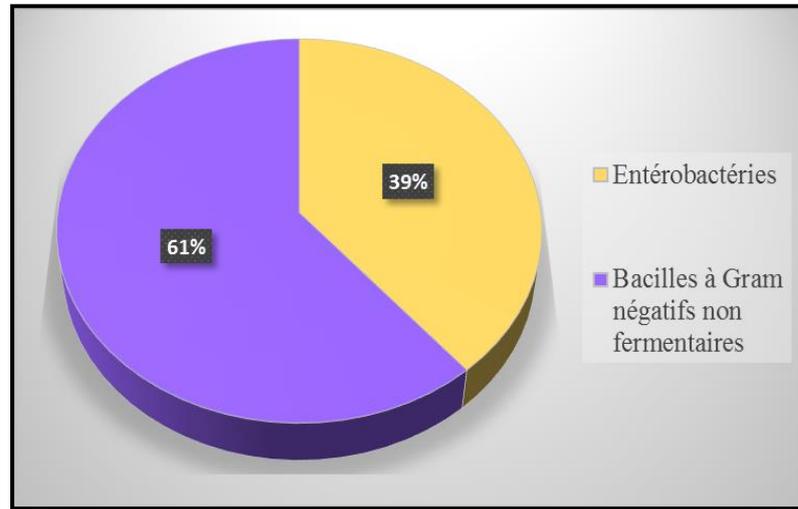
Durant la période d'étude, 50 prélèvements ont été réalisés (tableau 1), dont 22 de surface et 28 à partir de 22 patients. 31 prélèvements ont été effectués au niveau de service de réanimation, alors que 19 ont été effectués au niveau de service de néonatalogie.

**Tableau 1. Répartition des prélèvements selon les services et les sites de prélèvement.**

Service Type de prélèvement		Service		Total
		Réanimation	Néonatalogie	
Sonde trachéale		14	0	28
Sonde urinaire		01	0	
Sonde nasogastrique		0	5	
Plaies		0	01	
Cathéter		02	05	
Surfaces	Mûre	02	01	22
	Matelas	02	02	
	Drap de matelas	01	0	
	Chariots de matériel	01	01	
	Table	02	01	
	Poignée de porte	03	01	
	Stéthoscope	01	0	
	Pompe respiratoire	01	0	
	Seringue électrique	01	01	
	Couvercle de couveuse	0	01	
Total		31	19	50

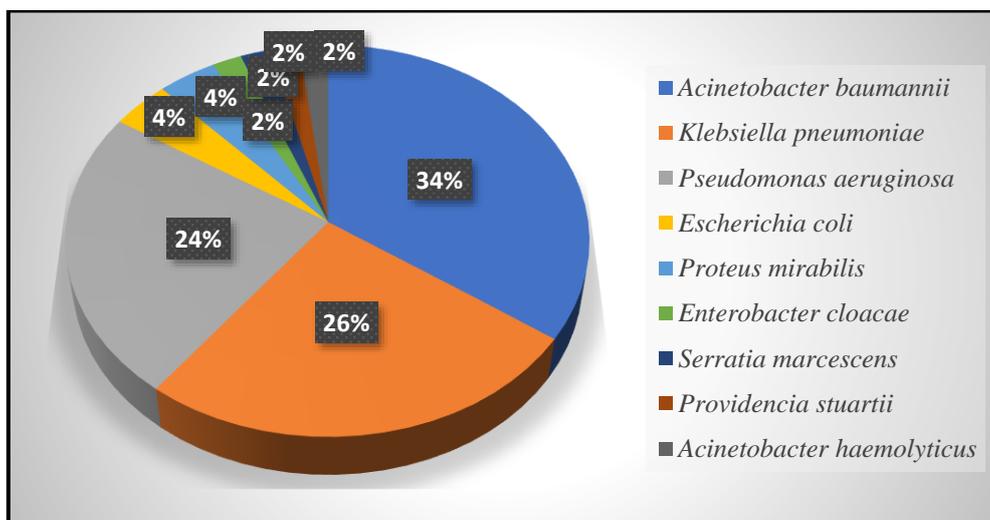
### 1.2 Répartition des souches identifiées

Durant la période de Mars au Mai 2023 ,54 souches ont été isolées et identifiées, dont 61% (33/54) sont des bacilles à Gram négatif non fermentaires et 39% (21/54) sont des entérobactéries (figure 8).



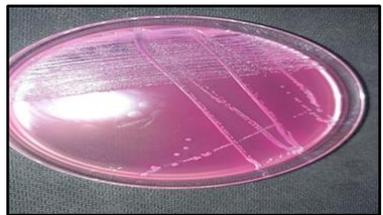
**Figure 8. Répartition des souches isolées selon le groupe bactérien.**

L'identification des souches (tableau 2) (figures 10 et 11) a montré la dominance de l'espèce *Acinetobacter baumannii* avec 19 souches (35%) suivie de *Klebsiella pneumoniae* avec 14 souches (26%) et de *Pseudomonas aeruginosa* avec 13 souches (24%). Les autres BGN isolées étaient *Escherichia coli* (2 souches), *Proteus mirabilis* (2 souches), *Enterobacter cloacae* (1 souche), *Serratia marcescens* (1 souche), *Providencia stuartii* (1 souche) et *Acinetobacter haemolyticus* (1 souche) (figure 9).



**Figure 9. Répartition des souches isolées selon les espèces.**

Tableau 2. Résultats des tests d'identification des souches étudiées.

Souche	Observation macroscopique	TSI	Test d'oxydase
<i>Acinetobacter baumannii</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
<i>Proteus mirabilis</i>			
<i>Escherichia coli</i>			

<p><i>Enterobacter cloacea</i></p>			
<p><i>Serratia marcescens</i></p>			
<p><i>Acinetobacter haemolyticus</i></p>			

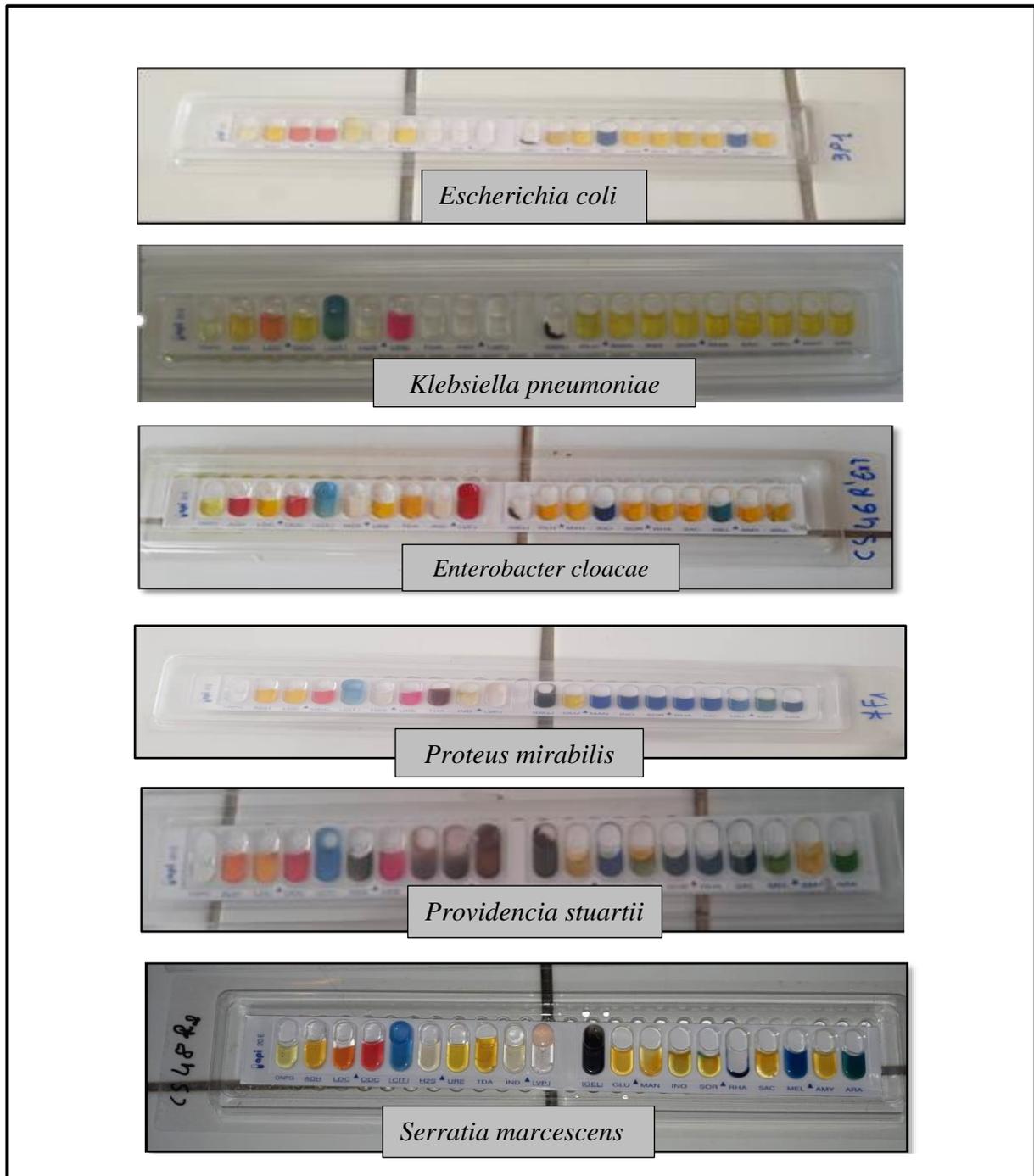


Figure 10. Identification des entérobactéries par galerie API20E.

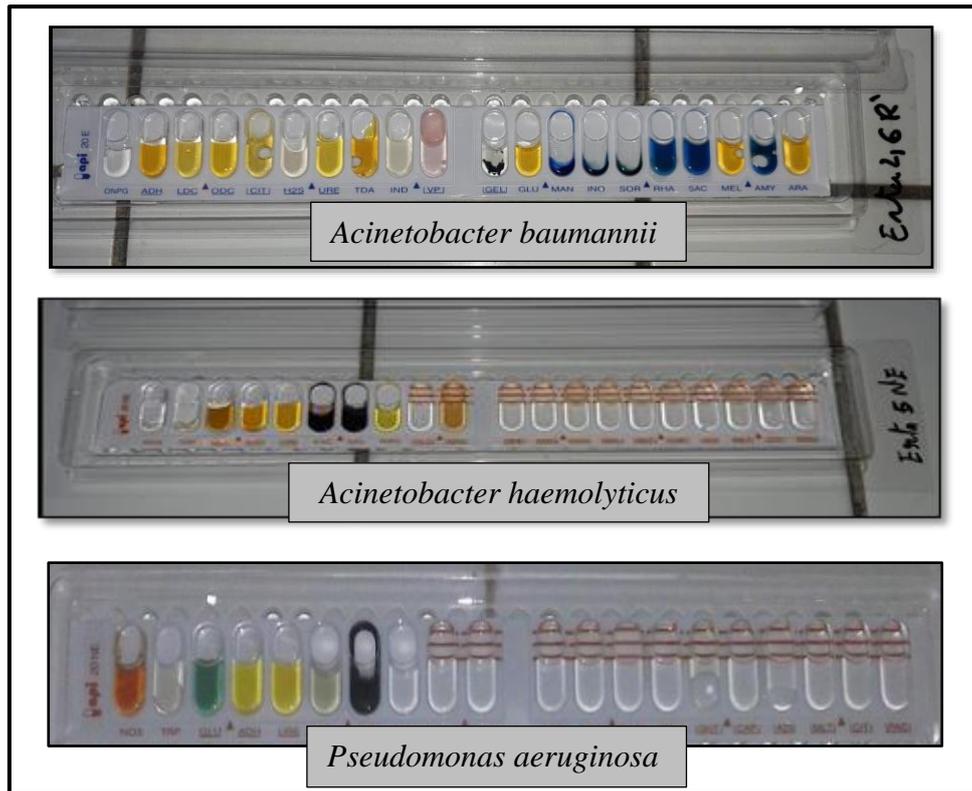


Figure11. Identification des BGN non fermentaires par galerie API 20E et API 20 NE.

### 1.3 Souches résistantes aux carbapénèmes

#### 1.3.1 Répartition des souches

Les résultats de cette étude révèlent la présence de 44 bacilles à Gram négatif sur les boîtes de MacConkey additionné de l'ertapénème, dont 36 sont résistants aux carbapénèmes, ce qui correspond à une fréquence d'isolement de 72% (36 souches/ 50 prélèvements), soulignant la gravité du problème de diffusion de souches résistantes aux carbapénèmes au CHU de Tlemcen. Parmi ces dernières, *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* étaient les espèces majoritaires avec 14 (39%) et 12 (33%) souches respectivement suivies de 07 souches de *Klebsiella pneumoniae* (19%), 2 *Proteus mirabilis* (6%) et 1 *Providencia stuartii* (3%) (figure 12).

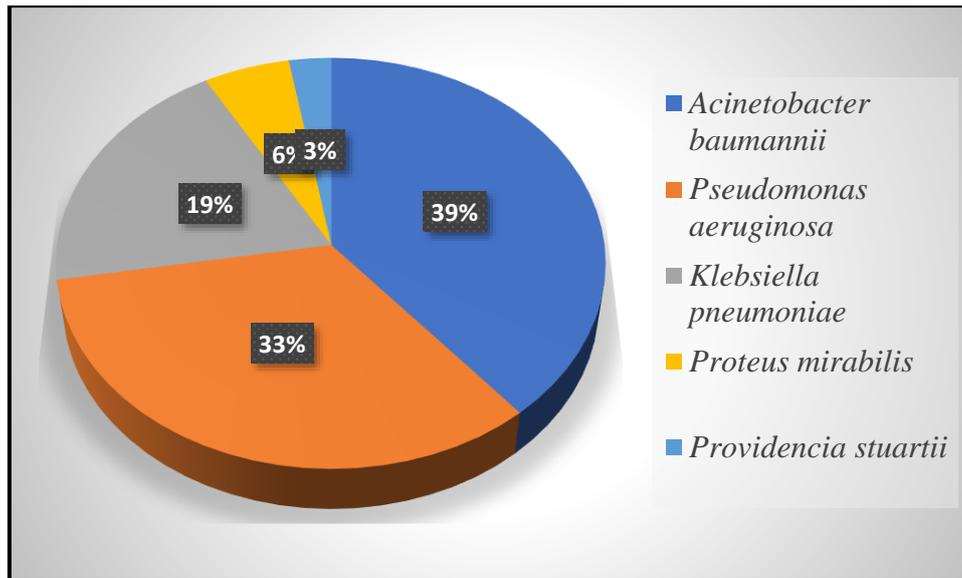


Figure 12. Répartition des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes selon les espèces.

Dans le service de réanimation 33 BGN résistants aux carbapénèmes ont été isolés ce qui correspond à une fréquence d'isolement de 106.4% (33 souches / 31 prélèvements). Parmi ces souches, une proportion significative de BGN non fermentaires a été observée (73%) avec 14 souches d'*Acinetobacter baumannii* (43%) et 10 *Pseudomonas aeruginosa* (30%). Cependant, une proportion plus faible d'entérobactéries a été trouvée (27%) avec 06 souches de *Klebsiella pneumoniae* (18 %), 2 *Proteus mirabilis* (6%) et 1 *Providencia stuartii* (3%) (figure 13).

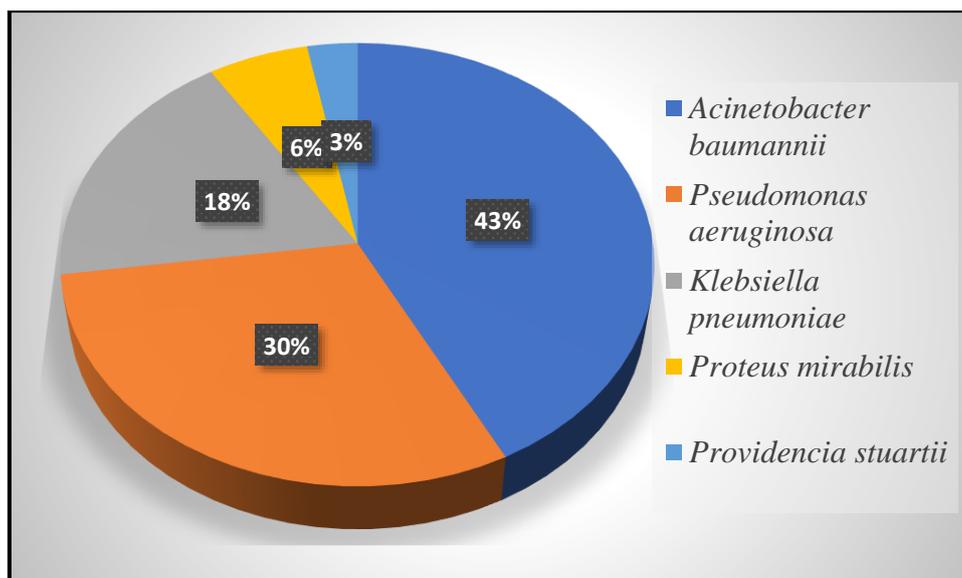


Figure 13. Répartition des bacilles à Gram négatif résistants au carbapénème au niveau de la réanimation.

L'étude menée au sein du service de néonatalogie a révélé la présence de seulement 03 souches de BGN résistants aux carbapénèmes ce qui correspond à une fréquence d'isolement de 16% (3 souches / 19 prélèvements). Dans ce service, 02 *Pseudomonas aeruginosa* et une *Klebsiella pneumoniae* ont été isolées.

Il est à noter que les fréquences d'isolement des BGN résistantes aux carbapénèmes étaient très importantes et inquiétantes à partir des sondes trachéales (164%) (23 souches / 14 prélèvements), sondes nasogastriques (60%) et à partir des prélèvements de surfaces (71%). Cependant, pour les autres sites de prélèvement comme les sondes urinaires, les plaies et les cathéters on ne peut pas interpréter et discuter cette fréquence d'isolement à cause de nombre réduit de prélèvements (Annexe 5).

### 1.3.2 Résistance aux antibiotiques des souches résistantes aux carbapénèmes

Pour l'ensemble des souches résistantes aux carbapénèmes étudiées, les taux de résistances aux autres antibiotiques testés dépassent les 50%. En effet, pour les BGN non fermentaires (figure14), des taux de résistance très élevés ont été notés : ticarcilline (100%), ticarcilline + acide clavulanique (96.2%), céftazidime (100%), céfépime (100%), aztréonam (96.2%) imipénème (100%), méropénème (73.1%), gentamicine (100%), tobramycine (69.2%), ciprofloxacine (100%) et colistine (57.7%).

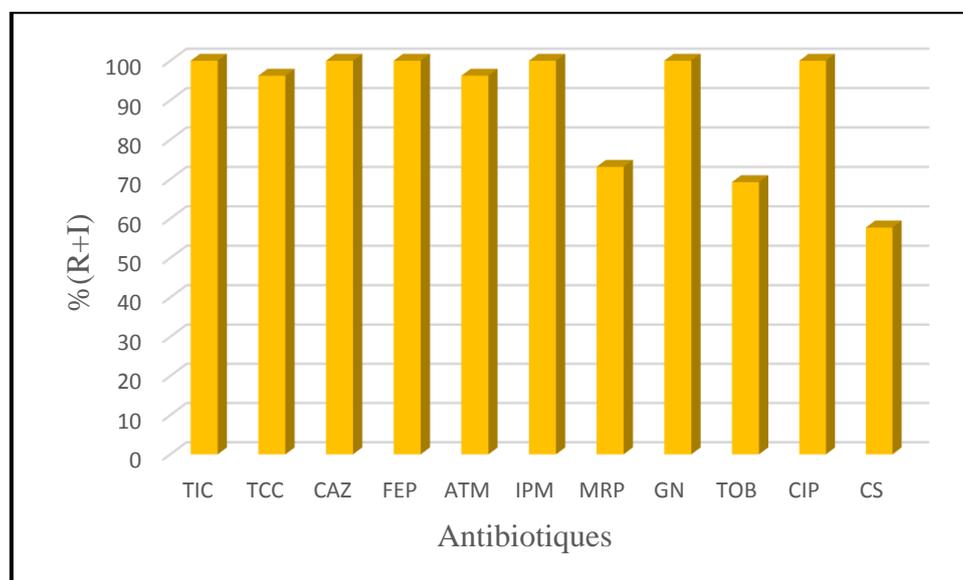


Figure 14. Taux de résistance aux antibiotiques des BGN non fermentaires.

Concernant les entérobactéries des taux de résistance de 100% ont été trouvés avec tous les antibiotiques testés, sauf l'aztréonam, la tobramycine et la colistine avec respectivement 60%,80% et 60% de souches résistantes (figure 15).

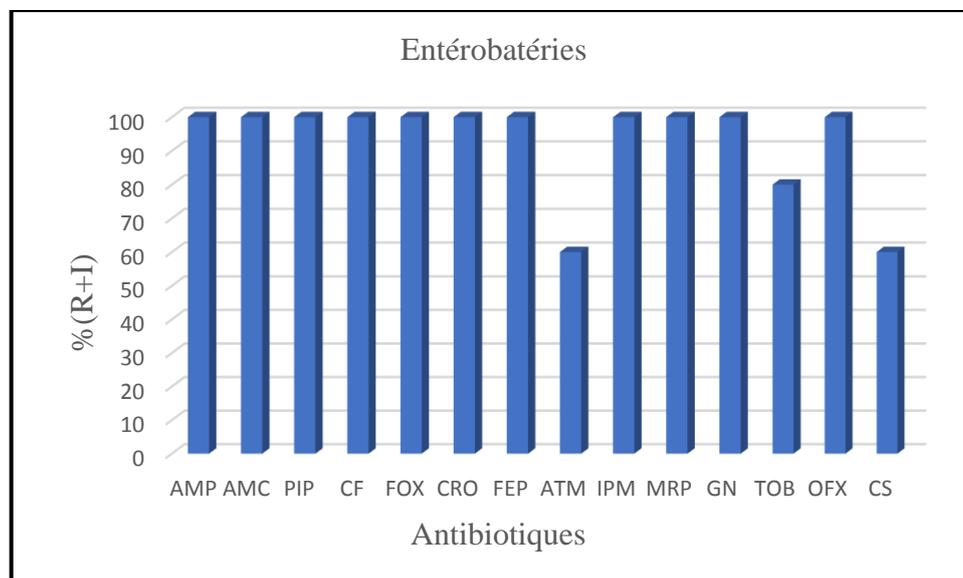


Figure 15. Taux de résistance aux antibiotiques des entérobactéries.

### 1.3.3 Concentration minimale inhibitrice des carbapénèmes

Parmi les souches résistantes aux carbapénèmes, 07 souches les plus multirésistantes appartenant aux différentes espèces et isolées des services de réanimation et de néonatalogie, ont été sélectionnées pour déterminer les CMI des carbapénèmes.

Les valeurs des CMI étaient variables. Elles étaient comprises entre 3µg/ml et 12 µg/ml pour l'ertapénème et 2µg/ml et 3µg/ml pour le méropénème chez les souches de *K. pneumoniae* testées ; et elle variait de 8 à > 32µg/ml pour l'imipénème chez les souches testées de BGN non fermentaires (tableau 03) (figure 16).

Tableau 3. Concentration minimale inhibitrice des carbapénèmes.

Code	Espèce bactérienne	Service	Origine de prélèvement	CMI de l'ertapénème	CMI de l'imipénème	CMI de méropénème
P13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	/	> 32µg/ml	/
P5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	/	8 µg/ml	/
A8	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Réanimation	Sonde trachéale	/	> 32µg/ml	/
A11	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Réanimation	Sonde trachéale	/	> 32µg/ml	/
K12	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Réanimation	Poigné de porte	8µg/ml	/	3µg/ml
K14	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Réanimation	Sonde trachéale	12µg/ml	/	3µg/ml
K7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Néonatalogie	Sonde nasogastrique	3µg/ml	/	2µg/ml

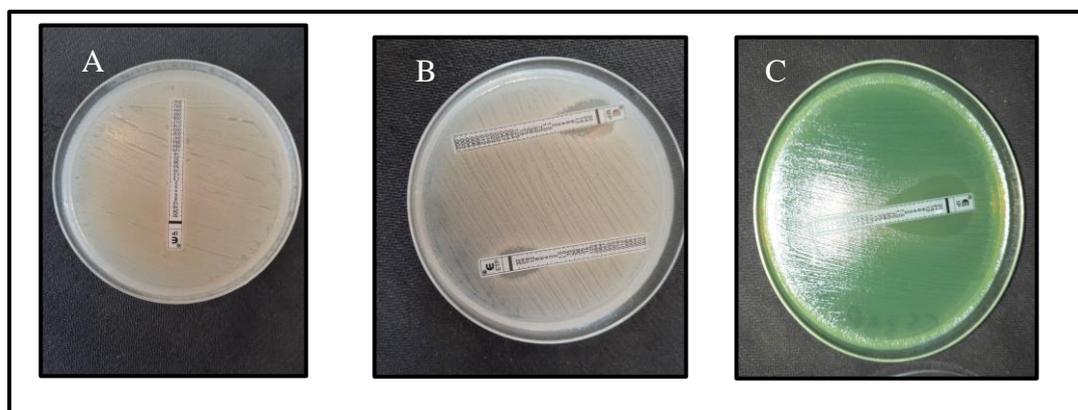


Figure 16. Résultats d'E test.

A : *Acinetobacter baumannii*, B : *Klebsiella pneumoniae*, C : *Pseudomonas aeruginosa*.

## 1.4 Souches résistantes à la colistine

### 1.4.1 Répartition des souches

Cette étude a montré la présence de 35 bacilles à Gram négatif résistants à la colistine qui représente une fréquence d'isolement de 70% (35/50) ce qui manifeste la sévérité de la situation au sein du milieu hospitalier à Tlemcen. Parmi ces souches *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce majoritaire avec 13 souches (37%) suivie de 10 *Klebsiella pneumoniae* (29%), 5 *Acinetobacter baumannii* (14%) et 2 *Proteus mirabilis* (5.7%). De plus, une souche de chacune des espèces suivantes a été isolée : *E scherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Providencia stuartii*, *Serratia marcescens* et *Acinetobacter haemolyticus* (figure 17).

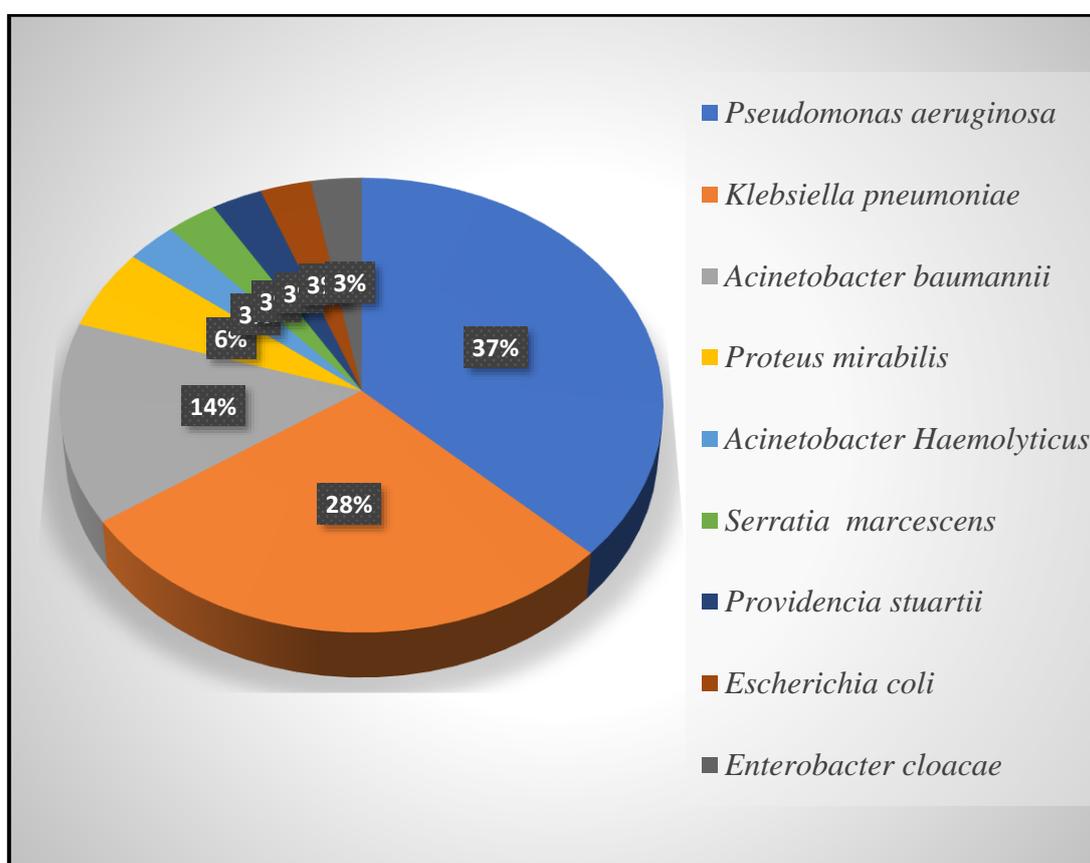


Figure 17. Répartition des bacilles à Gram négatif résistants à la colistine.

La répartition des BGN résistants à la colistine est différente selon les services étudiés. Concernant le service de réanimation, 26 souches ont été isolées ce qui correspond à une fréquence d'isolement de 84% (26/31). *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce prédominante dans ce service avec 11 souches (42.3%), suivie de *Klebsiella pneumoniae* avec 06 souches (23,1%) et d'*Acinetobacter baumannii* avec 3 souches (11.5%). Les autres entérobactéries résistantes à la colistine détectées dans cette étude n'ont été isolées que dans le service de

réanimation. Il s'agit de 02 *Proteus mirabilis* (7.7%), 1 *Escherichia coli*, 1 *Enterobacter cloacae*, 1 *Providencia stuartii* et 1 *Serratia marcescens* (figure 18).

Pour le service de néonatalogie, la fréquence d'isolement des BGN résistants à la colistine est plus faible que celle au niveau de la réanimation, mais elle reste toujours considérable (47.4%) (9souches /19 prélèvements). De plus, et contrairement au service de réanimation, l'espèce majoritaire dans ce service est *Klebsiella pneumoniae* avec 4 souches (44.4%) suivie de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* avec 2 souches de chacune (22.2%) et d'une seule souche d'*Acinetobacter haemolyticus* (11.1%) (figure 19).

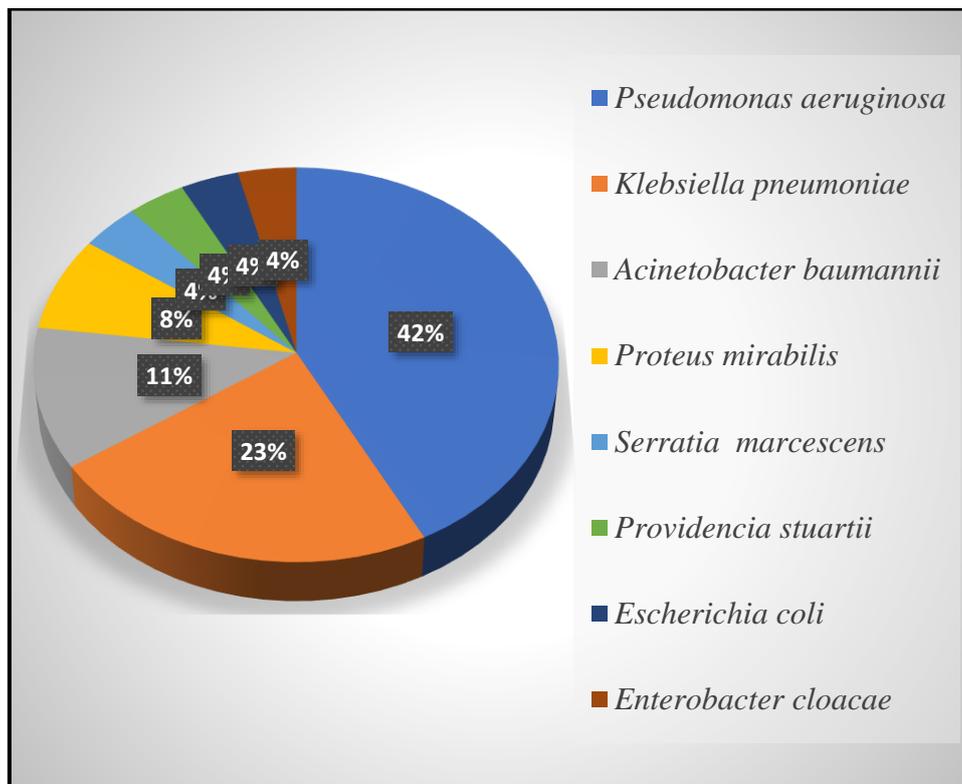
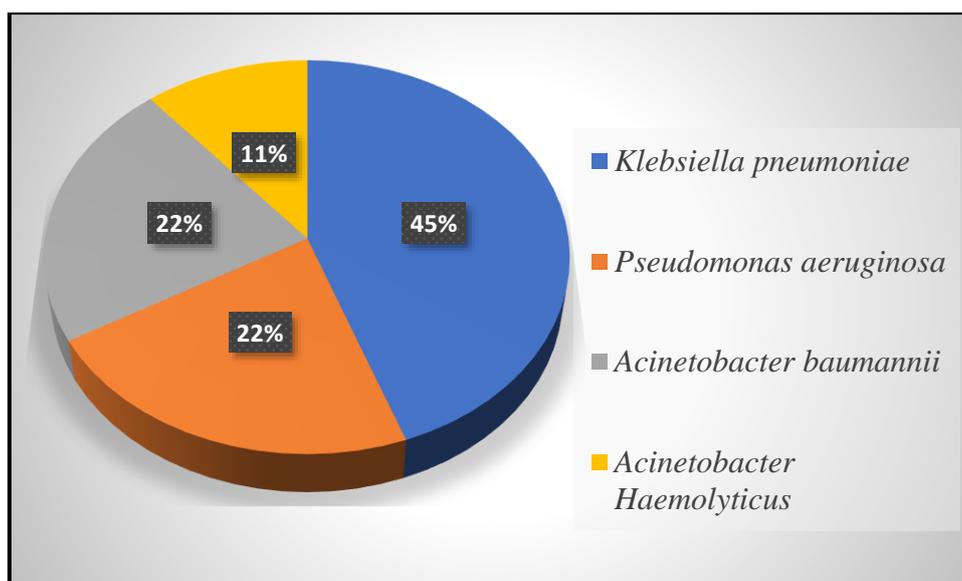


Figure 18. Répartition des bacilles à Gram négatif résistants à la colistine au niveau de la réanimation.



**Figure 19. Répartition des bacilles à Gram négatif résistants à la colistine au niveau de service de néonatalogie.**

Il est très important de signaler que les souches résistantes à la colistine ont été le plus fréquemment isolées des sondes nasogastriques et sondes trachéales avec des fréquences d'isolement de 140% et 135.7% respectivement. Cependant, l'isolement de ces souches étaient moins fréquent à partir des surfaces et des cathéters avec des fréquences d'isolement de 50% et 14.3% respectivement (Annexe 5).

#### 1.4.2 Résistance aux antibiotiques des souches résistantes à la colistine

Les résistances aux antibiotiques des souches résistantes à la colistine isolées dans cette étude sont variables. Pour les BGN non fermentaires, des taux de résistance élevés dépassant les 60% ont été enregistrés pour la plupart des antibiotiques testés : colistine (100%), ciprofloxacine (100%), céfépime (94.7%), aztréonam (94.7%), céftazidime (84.2%), ticarcilline (84.2%), ticarcilline + acide clavulanique (84.2 %), imipénème (84.2%), gentamicine (78.9%) et tobramycine (63.2%). Le taux de résistance le plus faible est observé avec le méropénème (42.1%) (figure 20).

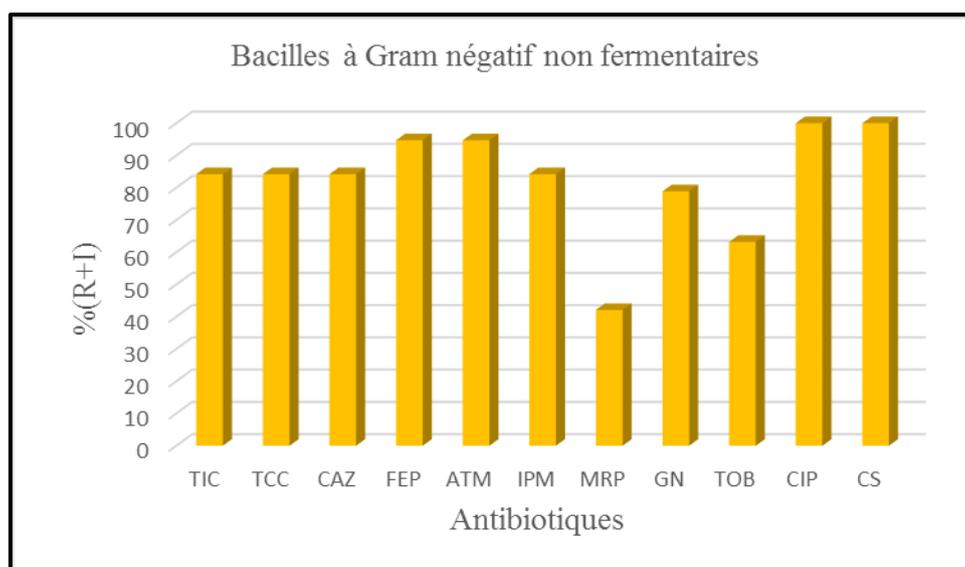


Figure 20. Résistance aux antibiotiques des BGN non fermentaires résistants à la colistine.

Concernant les entérobactéries, les antibiotiques montrant une bonne activité sont l'aztréonam, l'imipénème et le méropénème avec 62.5% de souches sensibles pour chacun. Pour les autres antibiotiques testés, des taux de résistance très élevés ont été observés : l'ampicilline (93,8%), l'amoxicilline + acide clavulanique (75%), pipéracilline (93.8%) céfalotine (100%) céfoxitine (93,8%), céftriaxone (93,8%), céfépime (93,8%), gentamicine (88%), tobramycine (81,3%), ofloxacine (81,3%) et colistine (100%) (figure 21).

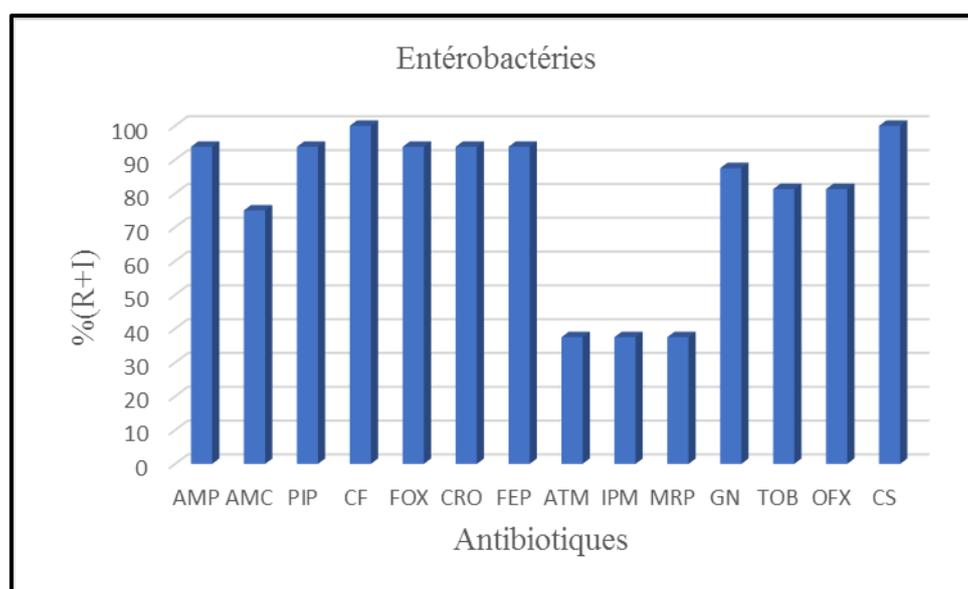
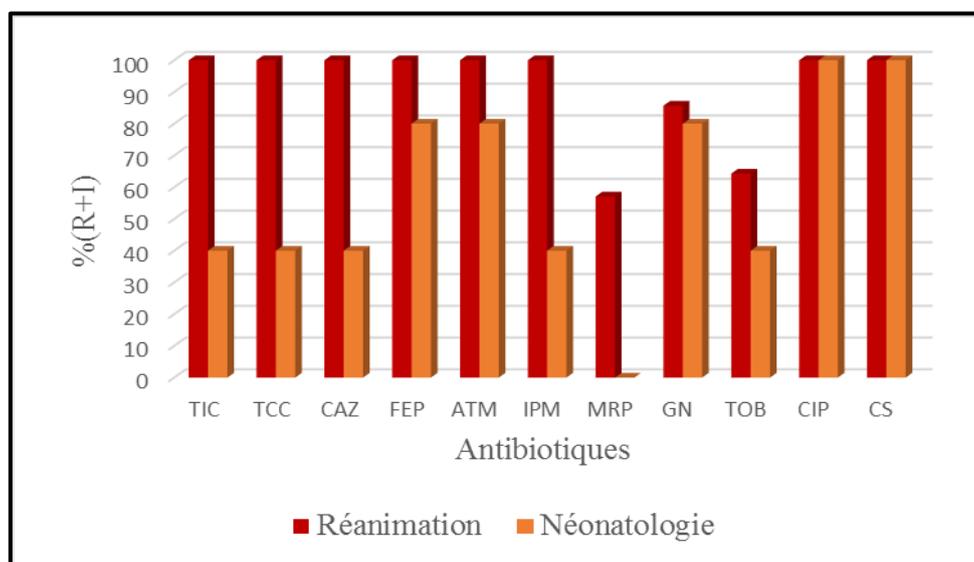


Figure 21. Résistance aux antibiotiques des entérobactéries résistantes à la colistine.

Pour les BGN non fermentaires résistants à la colistine des différences significatives des taux de résistance ont été observés entre les services de réanimation et de néonatalogie (figure). Toutes les souches isolées des deux services montrent une résistance de 100% à la colistine et au ciprofloxacine. Cependant, la résistance est plus élevée au niveau de la réanimation pour les autres antibiotiques testés. En effet, au niveau du service de réanimation, les résultats indiquent des taux de résistance de 100% pour la ticarcilline, la ticarcilline + l'acide clavulanique, la céftazidime, le céfépime, l'aztréonam et l'imipénème. Il est important de noter que le méropénème reste actif contre les BGN non fermentaires isolées de service de néonatalogie avec 100% de souches sensibles (figure 22).



**Figure 22. Résistance aux antibiotiques des BGN non fermentaires au niveau des deux services.**

Pour les entérobactéries, toutes les souches isolées des deux services présentent une résistance de 100% à la colistine et à la céfalotine. Cependant, pour les autres antibiotiques testés, des différences notables de taux de résistance entre les deux services ont été observées (figure 23). En effet, pour l'aztréonam et les carbapénèmes une très bonne activité a été notée contre les souches isolées de service de néonatalogie, tandis que des taux de résistance de 50% ont été enregistrés pour ces antibiotiques au niveau de la réanimation. Pour les autres antibiotiques testés, les taux de résistance étaient plus élevés à la néonatalogie sauf pour l'amoxicilline + l'acide clavulanique et l'ofloxacine où il y avait plus de souches résistantes au niveau de la réanimation.

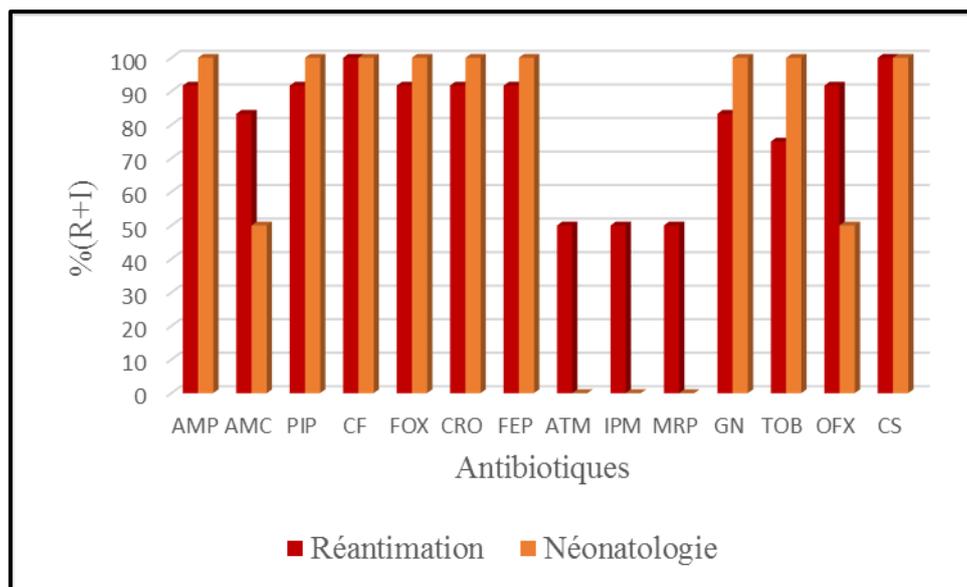


Figure 23. Résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau des deux services.

#### 1.4.3 Concentration minimale inhibitrice de la colistine

Les résultats des CMI de la colistine montrent des valeurs très variables pour l'ensemble des souches testés. En effet, Pour *Pseudomonas aeruginosa*, des CMI allant de 8µg/ml à >128µg/ml ; et pour *Klebsiella pneumoniae* et *Acinetobacter baumannii*, des CMI variant de 4µg/ml à >128µg/ml ont été observées. Ces résultats indiquent une résistance significative de ces souches à la colistine (tableau 4) (figure 24).

Tableau 4. Concentration minimale inhibitrice de la colistine.

Code	Espèce bactérienne	Services	Origine de prélèvement	CMI (µg/ml)
P8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Néonatalogie	Sonde nasogastrique	8µg/ml
P13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	8µg/ml
P7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Petite table	16µg/ml
P12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	16µg/ml
P10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	> 128µg/ml
P2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	32µg/ml
P1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	> 128µg/ml
P11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	> 128µg/ml

P9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Néonatalogie	Sonde nasogastrique	32µg/ml
P5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	>128µg/ml
P6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	> 128µg/ml
P4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Réanimation	Sonde trachéale	16µg/ml
K13	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Réanimation	Sonde trachéale	> 128µg/ml
K6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Néonatalogie	Sonde nasogastrique	8µg/ml
K11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Réanimation	Matras	8µg/ml
K1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Réanimation	Sonde trachéale	4µg/ml
K2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Réanimation	Sonde trachéale	32µg/ml
K14	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Réanimation	Sonde trachéale	8µg/ml
K5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Néonatalogie	Sonde nasogastrique	64µg/ml
K4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Néonatalogie	Sonde nasogastrique	8µg/ml
K12	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Réanimation	Poignée de porte	8µg/ml
K3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Néonatalogie	Plaie	32µg/ml
A19	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Réanimation	Table	4µg/ml
A15	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Réanimation	Pompe respiratoire	8µg/ml
A17	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Néonatalogie	Sonde nasogastrique	4µg/ml
A18	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Néonatalogie	Sonde nasogastrique	> 128µg/ml
A16	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Réanimation	Poignée de porte	> 128µg/ml
H1	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	Néonatalogie	Cathéter	64µg/ml
EC1	<i>Enterobacter Cloacae</i>	Réanimation	Table	8µg/ml
E1	<i>Escherishia coli</i>	Réanimation	Sonde trachéale	32µg/ml

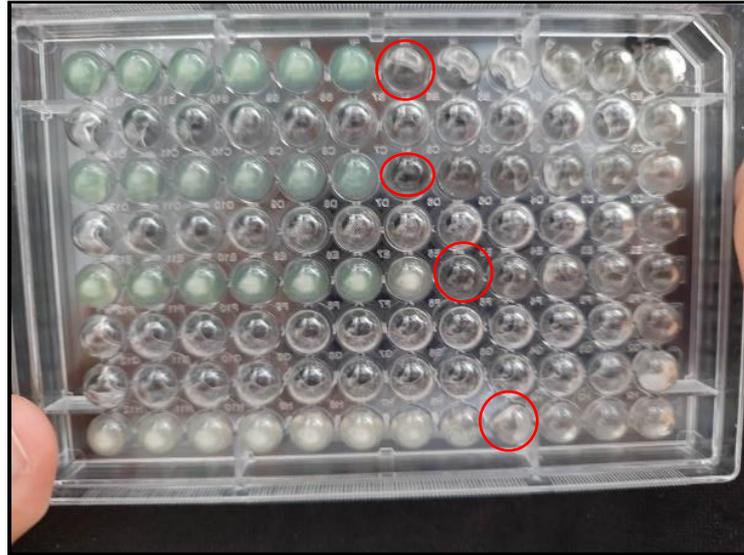


Figure 24. Résultats des CMI de la colistine sur microplaque.

## 1.5 Phénotype de résistance aux $\beta$ -lactamines

### 1.5.1 Résultats de test ChromID CARBA SMART

Toutes les souches résistantes aux carbapénèmes isolées dans cette étude, ont poussé sur la partie CARBA de la gélose ChromID CARBA SMART (figure 25), ce qui signifie que leur résistance aux carbapénèmes est due à la production des carbapénémases. De plus quatre souches de *Pseudomonas aeruginosa* et une *Proteus mirabilis* ont poussé également sur la partie OXA de la gélose ChromID CARBA SMART ce qui indique que les carbapénémases produites par ces souches sont de type oxacillinases (Carbapénémases de classe D).

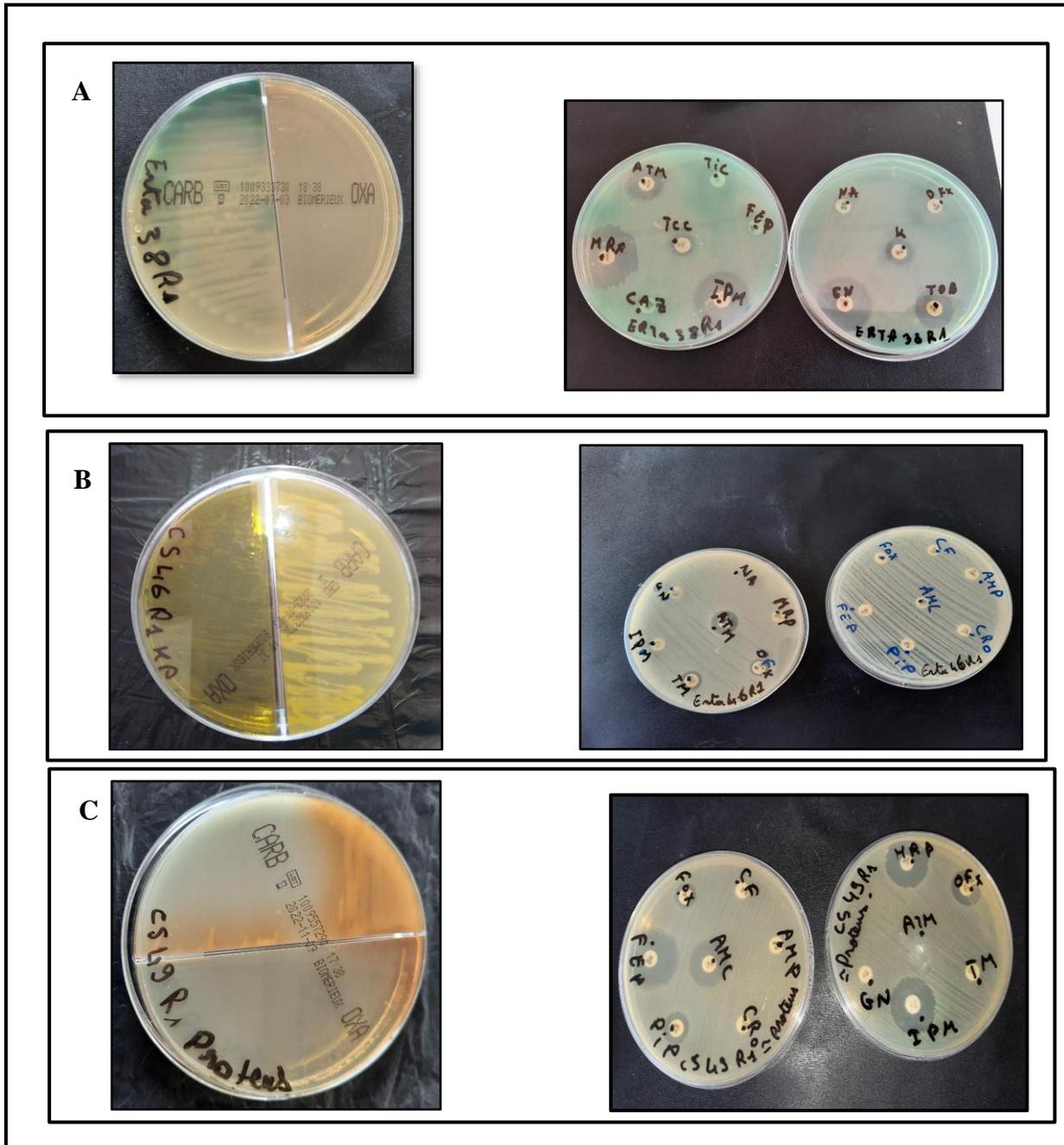


Figure 25. Résultats de l'antibiogramme et test ChromID CARBA SMART.

A : *Pseudomonas aeruginosa*, B : *Klebsiella pneumoniae* , C : *Proteus mirabilis*

### 1.5.2 Résultats de test de synergie

Parmi les souches étudiées, deux souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes à la colistine ont présenté des images de synergie en bouchon de champagne entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de troisième et de quatrième génération, indiquant la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) (figure 26).

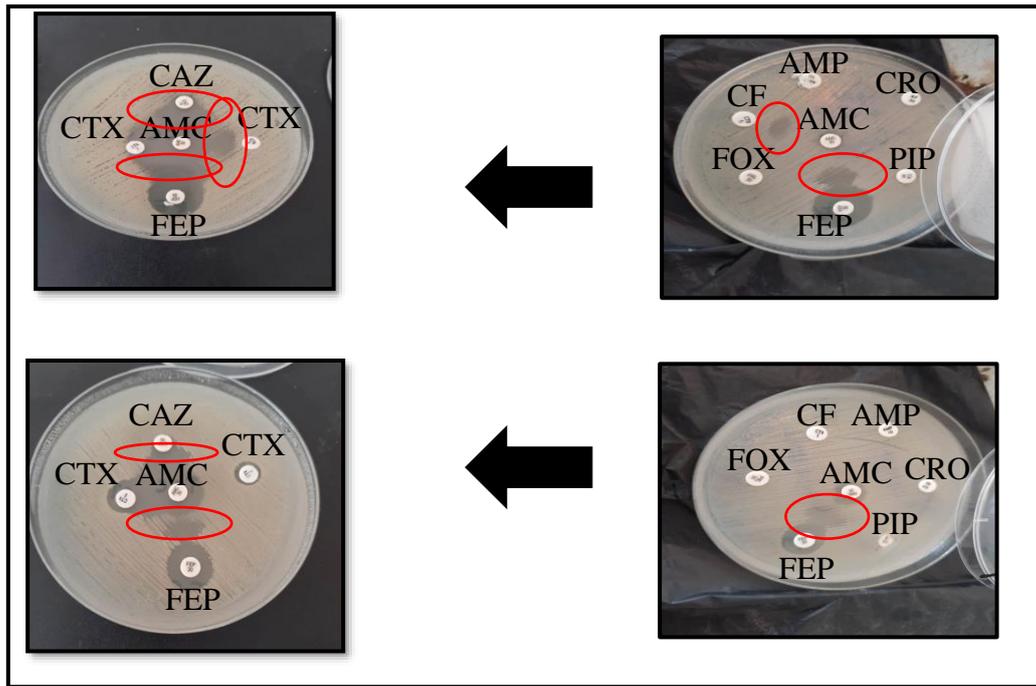


Figure 26. Résultats de l'antibiogramme et de test de synergie.

**AMP** : ampicilline

**AMC** : amoxicilline + acide clavulanique

**PIP** : pipéracilline

**CF** : céfalotine

**FOX** : céfoxitine

**CRO** : ceftriaxone

**FEP** : céfépime

### 2. Discussion

La diffusion rapide des bacilles à Gram négatif constitue un problème majeur au sein des établissements de santé, leur résistance croissante aux antibiotiques notamment aux carbapénèmes et à la colistine représente un défi significatif pour la prise en charge des infections liées aux soins. Face à cette situation préoccupante, il devient essentiel de mener des études sur la distribution des différentes espèces bactériennes et leur sensibilité à ces antibiotiques.

Entre Mars et Mai 2023, 36 bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes ont été isolés à partir des services de réanimation et de néonatalogie du CHU de Tlemcen. La présente étude a révélé une fréquence d'isolement élevée de 52% pour les BGN non fermentaires résistants aux carbapénèmes, mettant en évidence une résistance plus prononcée par rapport à une étude antérieure menée au CHU de Tlemcen par Liazid en 2011, où la fréquence d'isolement de ces souches était de 19% (Liazid, 2012). Cette étude a également rapporté, pour la première fois, l'isolement des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes au sein de notre établissement. En effet, une fréquence d'isolement considérable de ces entérobactéries a été observée, atteignant 20%. Cette valeur est nettement supérieure à celle rapportée dans une étude précédente menée à Sidi Bel'Abes, où le taux d'isolement était seulement de 2,4% (Souana *et al.*, 2011). Cette prévalence alarmante met en évidence la gravité du problème de résistance aux carbapénèmes au sein de notre établissement.

Parmi les souches résistantes aux carbapénèmes, on a observé une prédominance des BGN non fermentaires, représentant 72% des isolats, dont *Acinetobacter baumannii* est l'espèce majoritaire (39%) suivie de 33% de *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui concorde bien avec les résultats obtenus préalablement à l'hôpital de Tlemcen (Liazid, 2012) et de Bejaia (Bakour *et al.*, 2015a). Pour les enterobactéries, elles constituaient 28% des isolats avec la prédominance de *klebsiella pneumoniae* (19%) ce qui est conforme avec les résultats obtenus dans plusieurs hopitaux du centre et de l'est algerien (Touati et Mairi, 2019).

Il est important de souligner que toutes les souches de bacilles à Gram négatif étudiées résistaient aux carbapénèmes par la production de carbapénémase. En effet, une étude préalable réalisée par Mesli (Mesli *et al.*, 2013) dans notre établissement a déjà signalé la production de carbapénémase par *Acinetobacter baumannii*. De plus, des recherches menées par Touati et ses collaborateurs à l'hôpital d'Annaba (Touati *et al.*, 2013) et par Zaidi à Oran (Zaidi *et al.*, 2020) ont décrit la dissémination de souches de *Pseudomonas aeruginosa* productrices de

carbapénémases. Concernant les entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) qualifiées de BHRe (Bactéries Hautement Résistantes émergentes), elles ont été déjà décrites dans la région de centre et de l'est de l'Algérie (Touati et Mairi, 2019). Cependant, ces souches n'ont jamais été détectées au CHU de Tlemcen et non plus dans l'Ouest algérien. La présence des souches résistantes aux carbapénèmes demeure moins fréquente en Algérie, ce qui souligne la gravité de leur détection à Tlemcen avec des taux d'isolement élevés.

Dans notre étude, une augmentation significative au niveau de service de réanimation de la résistance aux carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa* ainsi que chez les entérobactéries a été remarquée en comparaison avec les études précédentes (Sefraoui, 2015 ; Liazid, 2012 ; Ayad, 2011). Cette augmentation est liée à la prescription massive des carbapénèmes en particulier l'imipénème qui est utilisé de manière considérable ces dernières années dans ce service.

La présente étude a révélé également l'isolement de 35 souches résistantes à la colistine. Une fréquence d'isolement élevée de 38% des BGN non fermentaires résistants à la colistine a été noté. Parmi ceux-ci, la fréquence d'isolement d'*Acinetobacter baumannii* observée, était de 10%, valeur plus élevée par rapport à une étude antérieure menée dans la région ouest de l'Algérie (Tlemcen-Oran-Sidi Bel Abbas), qui n'a signalée aucune résistance à la colistine parmi les souches d'*A. baumannii* (Mesli *et al.*, 2013). De plus, une augmentation de la résistance à la colistine chez *Pseudomonas aeruginosa* a été constatée, avec une fréquence d'isolement de 26%. Cette valeur est comparativement plus élevée que celle rapportée par Liazid (13,7%) (Liazid, 2012). Pour les entérobactéries une fréquence d'isolement significatif de 32% a été enregistrée, cette valeur est nettement supérieure à celle rapportée dans une étude précédente effectuée dans le même établissement (Ayad et Drissi, 2012). Cette constatation suggère une augmentation de l'incidence des BGN résistants à la colistine au CHU de Tlemcen.

Parmi les souches résistantes à la colistine isolées dans cette étude, une prédominance des BGN non fermentaires a été observée, représentant 54,3% des isolats. Parmi eux, *Pseudomonas aeruginosa* était l'espèce majoritaire avec une prévalence de 68,4%. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus dans une étude précédente menée à l'hôpital de Ben Arous en Tunisie (Krir *et al.*, 2019), où la prédominance était attribuée à *Acinetobacter baumannii*. En ce qui concerne les entérobactéries, elles représentaient 45,7% des isolats, avec une prédominance de *Klebsiella pneumoniae* (62,5%), contrairement aux résultats obtenus dans une étude menée au CHU de Bordeaux (Saly *et al.*, 2016), où *Escherichia coli* était l'espèce majoritaire. Ces

variations observées semblent être associées à l'écologie bactérienne spécifique à chaque établissement hospitalier.

La résistance observée chez les souches étudiées, aux carbapénèmes, à la colistine et à la plupart des autres antibiotiques testés, témoigne leur caractère multirésistant (BMR). Cela indique une utilisation inappropriée de ces médicaments, ainsi qu'une mauvaise gestion des pratiques d'hygiène. Malheureusement, cette situation a des conséquences graves pour les patients hospitalisés, entraînant un taux de mortalité élevé.

Parmi les souches étudiées, celles provenant de l'environnement ont démontré une résistance aux carbapénèmes et à la colistine, les qualifiant ainsi de BHRe pour les EPC et de BMR pour les BGN non fermentaires multirésistants. Ces résultats soulignent le rôle crucial de l'environnement hospitalier dans la transmission des souches multirésistantes et leur dissémination au sein de l'établissement de santé. Il convient de noter qu'aucune souche résistante aux carbapénèmes et/ou à la colistine n'a été isolée dans le service de néonatalogie, contrairement au service de réanimation. Cette différence entre les deux services suggère une possible variation dans les pratiques d'hygiène et de prescription d'antibiotiques.

La résistance des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques, y compris aux carbapénèmes, a augmentée auparavant le recours à la colistine. Cependant, l'utilisation intensive de la colistine ces dernières années a contribué à l'émergence également de souches résistantes, aggravant ainsi encore la situation ce qui conduit vers l'impasse thérapeutique.

# *CONCLUSION*

### Conclusion

La propagation des bacilles à Gram négatif (BGN) résistants aux carbapénèmes et/ou à la colistine constitue une préoccupation majeure en matière de santé publique. En effet, notre étude confirme cette situation au CHU de Tlemcen où 54 souches de BGN résistants à ces antibiotiques ont été isolés dans les services de réanimation et de néonatalogie entre Mars et Mai 2023. Parmi ces souches *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* étaient les espèces majoritaires.

Cette étude montre que la résistance aux carbapénèmes est exclusivement due à la production de carbapénémases. Il est important de signaler que notre étude est la première qui rapporte la description des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) dans l'Ouest algérien. Ces souches sont qualifiées de BHR peu fréquemment détectées en Algérie.

Les résultats révèlent également que la majorité des souches isolées dans cette étude sont hautement résistantes à la colistine avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) dépassant les 128 µg/ml. De plus, les souches étudiées ont été également résistantes aux quinolones et aux aminosides ce qui limite le choix thérapeutique.

La multirésistance aux antibiotiques a été également détectée chez les souches isolées à partir de l'environnement hospitalier. Ceci confirme l'importance majeure de ce facteur dans la transmission des souches multirésistantes et leur diffusion au sein de notre établissement.

Cette étude prouve que l'efficacité des carbapénèmes et de la colistine, antibiotiques de dernier recours contre les infections à BGN, a diminué considérablement au CHU de Tlemcen. Cette situation inquiétante nécessite une meilleure maîtrise en termes d'hygiène hospitalière et de promouvoir une utilisation rationnelle des antibiotiques au sein de cet établissement. Une approche multidisciplinaire et collaborative est obligatoire, impliquant les professionnels de la santé, les chercheurs et les décideurs afin de garantir des pratiques de soins optimales et de préserver l'efficacité des traitements.

La présente étude est une étude phénotypique nécessitant d'autres investigations moléculaires pour mieux caractériser les mécanismes de résistance des souches étudiées aux carbapénèmes et à la colistine. Des PCR et des séquençages peuvent être réalisés pour identifier les gènes de résistance, des électrophorèses en champ pulsé peuvent être réalisés pour comprendre le mécanisme de diffusion des souches dans ces deux services et l'analyse de

support plasmidique est également indispensable pour identifier les plasmides porteurs de ces gènes de résistance.

*RÉFÉRENCES*

*BIBLIOGRAPHIQUES*

**A**

Abbott, S. L. (2011). *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas*, and other enterobacteriaceae. Manual of clinical microbiology, 639-657. doi:10.1128/9781555816728.ch37. In: Schultz - Ascensio, E. (2018). Diffusion d'îlots génomiques de multirésistance aux antibiotiques chez *Proteus mirabilis*. Thèse de doctorat. Université de Tours.

Adegoke, A. A., Stenström, T. A., & Okoh, A. I. (2017). *Stenotrophomonas maltophilia* as an emerging ubiquitous pathogen: looking beyond contemporary antibiotic therapy. *Frontiers in microbiology*, 8, 2276.

Adler, M., Anjum, M., Andersson, D. I., & Sandegren, L. (2016). Combinations of mutations in *envZ*, *ftsI*, *mrdA*, *acrB* and *acrR* can cause high-level carbapenem resistance in *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(5), 1188-1198.

Aggoune, N., Tali-Maamar, H., Assaous, F., Benamrouche, N., Naim, M., & Rahal, K. (2014). Emergence of plasmid mediated carbapenemase OXA-48 in a *Klebsiella pneumoniae* strain in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2(4), 327-329.

Agarwal, J., Srivastava, S., & Singh, M. (2012). Pathogenomics of uropathogenic *Escherichia coli*. *Indian journal of medical microbiology*, 30(2), 141-149.

Akbari, M., Bakhshi, B., & Peerayeh, S. N. (2016). Particular distribution of *Enterobacter cloacae* strains isolated from urinary tract infection within clonal complexes. *Iranian biomedical journal*, 20(1), 49.

Alfei, S., & Schito, A. M. (2020). Positively charged polymers as promising devices against multidrug resistant gram-negative bacteria: A Review. *Polymers*, 12(5), 1195.

Alnasrawy, W. D., & AL-Aammar, M. H. (2021). A Molecular Study with A Comparison of the Odds of Diagnostic Methods For *Burkholderia Cepacia* Bacteria Isolated from Patients with Diabetic Foot Ulcer. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 15(3), 4603-4609.

An, S. Q., & Berg, G. (2018). *Stenotrophomonas maltophilia*. *Trends in microbiology*, 26(7), 637-638.

Andrade, F. F., Silva, D., Rodrigues, A., & Pina-Vaz, C. (2020). Colistin update on its mechanism of action and resistance, present and future challenges. *Microorganisms*, 8(11), 1716.

Arai, H. (2011). Regulation and function of versatile aerobic and anaerobic respiratory metabolism in *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in microbiology*, 2, 103.

Aslam, B., Rasool, M., Muzammil, S., Siddique, A. B., Nawaz, Z., Shafique, M., ... & Baloch, Z. (2020). Carbapenem resistance: Mechanisms and drivers of global menace. *Pathogenic Bacteria*.

Ayad, A. (2011). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au CHU de Tlemcen. Mémoire de magister. Université de Tlemcen.

Ayad, A., Drissi, M. (2012). Résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées au CHU de Tlemcen (Algérie). *Médecine du Maghreb*, 5-13.

Ayad, A., Drissi, M., de Curraize, C., Dupont, C., Hartmann, A., Solanas, S., ... & Neuwirth, C. (2016). Occurrence of ArmA and RmtB aminoglycoside resistance 16S rRNA methylases in extended-spectrum  $\beta$ -lactamases producing *Escherichia coli* in Algerian hospitals. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1409.

### B

Baba Ahmed-Kazi Tani, Z.; Arlet, G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie*, 62(3), 169–178. doi:10.1016/j.patbio.2014.01.005.

Bachiri, T., Lalaoui, R., Bakour, S., Allouache, M., Belkebla, N., Rolain, J. M., & Touati, A. (2018). First Report of the Plasmid-Mediated Colistin Resistance Gene *mcr-1* in *Escherichia coli* ST405 Isolated from Wildlife in Bejaia, Algeria. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 24(7), 890–895. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0026>

Bakour, S.; Kempf, M.; Touati, A.; Ait Ameer, A.; Haouchine, D.; Sahli, F.; Rolain, J.-M. (2012). Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in two university hospitals in Algeria. *Journal of Medical Microbiology*, 61(Pt\_9), 1341–1343. doi:10.1099/jmm.0.0458070.

Bakour, S., Garcia, V., Loucif, L., Brunel, J. M., Gharout-Sait, A., Touati, A., & Rolain, J. M. (2015a). Rapid identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a modified Carba NP test. *New microbes and new infections*, 7, 89-93. doi:10.1016/j.nmni.2015.07.001.

Bakour, S., Sahli, F., Touati, A., & Rolain, J. M. (2015b). Emergence of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* ST512 isolated from cerebrospinal fluid of a child in Algeria. *New Microbes and New Infections*, 3, 34-36.

- Baraduc, R., Darfeuille-Michaud, A., Forestier, C., Jallat, C., Joly, B., and Livrelly, D. 2000. *Escherichia coli* et autres *Escherichia*, *Shigella*. Précis de bactériologie clinique. Editions ESKA: 1115-1126 in : Lagha, N. E. B. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- Barbier, F., et Wolff, M. (2010). Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*-Vers l'impasse thérapeutique?. médecine/sciences, 26(11), 960-968.
- Bennett, J. E., Dolin, R., & Blaser, M. J. (2015). Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases.
- Berrazeg, M., Deriet, A., De Keersmaecker, S. C. J., Verhaegen, B., Vanneste, K., Botteldoorn, N., Roosens, N. H. C., Mouffok, F., & Drali, R. (2019). Whole-Genome Sequencing of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Strains Harboring the mcr-1 Gene, Isolated from Seawater of the Algiers Coast in Algeria. Microbiology resource announcements, 8(34), e00638-19. Doi:10.1128/MRA.00638-19
- Berrazeg, M., Hadjadj, L., Ayad, A., Drissi, M., & Rolain, J. M. (2016). First detected human case in Algeria of mcr-1 plasmid-mediated colistin resistance in a 2011 *Escherichia coli* isolate. Antimicrobial agents and chemotherapy, 60(11), 6996.
- Biswas, S., Brunel, J. M., Dubus, J. C., Reynaud-Gaubert, M., & Rolain, J. M. (2012). Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. Expert review of anti-infective therapy, 10(8), 917-934.
- Boulangier, A., Naas, T., Fortineau, N., Figueiredo, S., & Nordmann, P. (2012). NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* from Algeria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 56(4), 2214.
- Bourafa, N., Chaalal, W., Bakour, S., Lalaoui, R., Boutefnouchet, N., Diene, S. M., & Rolain, J. M. (2018). Molecular characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli clinical isolates in Algeria. Infection and drug resistance, 11, 735.
- Brahmi, S., Touati, A., Cadiere, A., Djahmid, N., Pantel, A., Sotto, A., ... & Dunyach-Remy, C. (2016). First description of two OXA-23-mediated carbapenem resistance in Sequence Type 2 *Acinetobacter baumannii* isolates in *Pagellus acarne* fished in the Mediterranean Sea afar Bejaia (Algeria). Antimicrobial Agents and Chemotherapy. doi:10.1128/aac.02384-15

Brahmia, S., Lalaoui, R., Nedjai, S., Djahmi, N., Chettibi, S., Rolain, J. M., & Bakour, S. (2021). First Clinical Cases of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* ST258 in Algeria and Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST101 Harboring blaOXA-48 Gene in the Urology Department of Annaba Hospital. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 27(5), 652–659. doi:10.1089/mdr.2020.0080.

Brenck, S. J., Caron, S., Chisowa, E., Delude, M. P., Drexler, M. T., Ewing, M. D., ... & Zelina, J. P. (2012). Development of a Practical and Convergent Process for the Preparation of Sulopenem. *Organic Process Research & Development*, 16(8), 1348-1359.

Brideau, M., Lavallée, C., Moisan, D., Perna, S., Plante, M.-P., et Savard, P. (2022). Mesures de prévention et de contrôle de la transmission des bacilles Gram négatif multirésistants dans les milieux de soins aigus du Québec. Institut national de santé publique du Québec. Repéré à [https://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/2022\\_Prevention\\_Controlle\\_Transmission\\_Gram.pdf](https://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/2022_Prevention_Controlle_Transmission_Gram.pdf).

Brooke, J. S. (2012). *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 25(1), 2-41.

Brooke, J. S. (2021). Advances in the microbiology of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical microbiology reviews*, 34(3), e00030-19.

Bryskier, A. (1999) Antibiotiques Agents Antibactériens et Antifongiques. Paris Ellipsesp: 55. In : Ayad, A. (2017). Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien (Doctoral dissertation). Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen

Buckle, J. (2015). Chapter 7-Infection .*Clinical Aromatherapy (Third Edition)*. St. Louis: Churchill Livingstone, 130-167.

### C

Carrër, A., et Nordmann, P. (2011). *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15: vers une modification de l'épidémiologie des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu. *Pathologie Biologie*, 59(6), e133-e135.

CA-SFM. (2022). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. [https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2022/05/CASFM2022\\_V1.0.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2022/05/CASFM2022_V1.0.pdf).

Cavallo, J. D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., & Garrabé, E. (2004). Bêtalactamines. *EMC-Maladies infectieuses*, 1(3), 129-202.

- Chackalamannil, S., Rotella, D., & Ward, S. (2017). *Comprehensive medicinal chemistry III*, 3<sup>ème</sup> édition. Elsevier.
- Chaalal, N., Touati, A., Yahiaoui-Martinez, A., Aissa, M. A., Sotto, A., Lavigne, J. P., & Pantel, A. (2021). Colistin-Resistant Enterobacterales Isolated from Chicken Meat in Western Algeria. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 27(7), 991–1002.doi:10.1089/mdr.2020.0109.
- Chelaghma, W., Loucif, L., Bendjama, E., Cherak, Z., Bendahou, M., & Rolain, J. M. (2022). Occurrence of Extended Spectrum Cephalosporin-, Carbapenem- and Colistin-Resistant Gram-Negative Bacteria in Fresh Vegetables, an Increasing Human Health Concern in Algeria. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(8), 988. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11080988>
- Chelliah,E.R., Kolandaswamy ,A; Govindan,S.S. (2006). Isolation and Characterization of A Metal-resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Strain. , 22(6), 577–585.Doi:10.1007/s11274-005-9074-4.
- Chemelle, J. A. (2010). Étude par modélisation moléculaire de l'effet allergène des antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines, tant sur le plan immédiat que retardé.Thèse de doctorat,Université Claude Bernard-Lyon I.
- Cherak, Z., Loucif, L., Bendjama, E., Moussi, A., Benbouza, A., Grainat, N., & Rolain, J. M. (2022). Dissemination of Carbapenemases and MCR-1 Producing Gram-Negative Bacteria in Aquatic Environments in Batna, Algeria. *Antibiotics*, 11(10), 1314.
- Chetri, S., Bhowmik, D., Paul, D., Pandey, P., Chanda, D. D., Chakravarty, A., & Bhattacharjee, A. (2019). AcrAB-TolC efflux pump system plays a role in carbapenem non-susceptibility in *Escherichia coli*. *BMC microbiology*, 19, 1-7.
- Chetri, S., Das, B. J., Bhowmik, D., Chanda, D. D., Chakravarty, A., & Bhattacharjee, A. (2020). Transcriptional response of mar, sox and rob regulon against concentration gradient carbapenem stress within *Escherichia coli* isolated from hospital acquired infection. *BMC research notes*, 13(1), 1-7.
- Choquet, M. (2016). Mise en place d'un algorithme décisionnel pour la détection des entérobactéries productrices de carbapénèmase (EPC) au laboratoire de bactériologie du CHU Amiens-Picardie.Thèse de doctorat, Université de Picardie Jules Verne.
- Coignard, B., & publique France, S. (2019). Antibiorésistance : la situation en France et dans le monde. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 203(3-4), 159-169.

### D

Davin-Regli A, Lavigne JP, Pagès JM.(2019). *Enterobacter spp.*: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. Clin Microbiol Rev. Jul 17;32(4):e00002-19. doi: 10.1128/CMR.00002-19. PMID: 31315895; PMCID: PMC6750132.

Delarras, C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier.

Denis,F.,Ploy,M-C., Martin,C., Cattoir,V.,Barbeyrac B., Barraud,O., Bébéar,C et Fumat,C. (2016). Bactériologie médicale : techniques usuelles.France :Elsevier Masson.3<sup>ème</sup> édition 30:302-332.

Dickinson, B. (2003). BDTM Cepacia Medium BDTM OFPBL Agar. Instructions for use—ready-to-use plated media. PA-254481.02. BD Diagnostic Systems, Heidelberg, Germany.

Djahmi, N., Dunyach-Remy, C., Pantel, A., Dekhil, M., Sotto, A., & Lavigne, J. P. (2014). Epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean countries. *BioMed research international*, 2014.

Dortet, L., Bonnin, R., Jousset, A., Gauthier, L., & Naas, T. (2016). Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries: une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance!. *Journal des Anti-infectieux*, 18(4), 139-159.doi:10.1016/j.antinf.2016.09.003.

Dortet, L., Poirel, L., & Nordmann, P. (2013). Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmases. *Feuillets de biologie*, 312, 1-13.

Drali, R., Berrazeg, M., Zidouni, L. L., Hamitouche, F., Abbas, A. A., Deriet, A., & Mouffok, F. (2018). Emergence of mcr-1 plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from seawater. *The Science of the total environment*, 642, 90–94. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.05.387.

### E

El-Gamal, M. I., Brahim, I., Hisham, N., Aladdin, R., Mohammed, H., & Bahaaeldin, A. (2017). Recent updates of carbapenem antibiotics. *European journal of medicinal chemistry*, 131, 185-195.

El-Sayed, M. A. E. G., Zhong, L. L., Shen, C., Yang, Y., Doi, Y., & Tian, G. B. (2020). Colistin and its role in the era of antibiotic resistance: An extended review (2000–2019). *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), 868.

Ewa, K., Tomasz, D., & Grażyna, M. (2016). Rapid detection of NDM, VIM, KPC and IMP carbapenemases by real-time PCR. *J Bacteriol Parasitol*, 7(6), 1000299.

### F

Falagas, M. E., Kasiakou, S. K., & Saravolatz, L. D. (2005). Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical infectious diseases*, 40(9), 1333-1341. Au lieu de baron 2017.

Fisher, R. G. (2009). *Providencia*. In Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases (pp. 1550-1552). WB Saunders.

Follador, R., Heinz, E., Wyres, K. L., Ellington, M. J., Kowarik, M., Holt, K. E., & Thomson, N. R. (2016). The diversity of *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharides. *Microbial genomics*, 2(8), e000073. doi :10.1099/mgen.0.000073.

Freney, J., Leclercq, R., Renaud, F., & Riegel, P. (2007). Précis de bactériologie clinique. In Précis de bactériologie clinique (pp. 1779-1779 in : Gadou, V. (2019). epidemiologie moleculaire des enterobacteries productrices de  $\beta$ -lactamases a spectre elargi resistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'abidjan, côte d'ivoire (doctoral dissertation, université félix houphouët-boigny (abidjan, côte d'ivoire); n° ordre 2186/2019).

### G

Gaddy J.A., Actis L.A. (2009). Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Future microbiology*. 4: 273-278.

Garcia-del Portillo, F. (2020). Building peptidoglycan inside eukaryotic cells: A view from symbiotic and pathogenic bacteria. *Molecular Microbiology*, 113(3), 613-626.

Garlantézec, R., Bourigault, C., Boles, J. M., Prat, G., Baron, R., Tonnelier, J. M., ... & Lejeune, B. (2011). Investigation and management of an imipenem-resistant oxa-23 *Acinetobacter*

*baumannii* outbreak in an intensive care unit. Médecine et maladies infectieuses, 41(8), 430-436.

Ghaidaa, J.M., Mohanad, J. K., & Imad, H.H. (2016). *Proteus* species: Characterization and herbal antibacterial: A review. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 8(11), 1844-1854.

Gharout-Sait, A., Touati, A., Ahmim, M., Brasme, L., Guillard, T., Agsous, A., & de Champs, C. (2019). Occurrence of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Bat Guano. Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.), 25(7), 1057–1062. doi: 10.1089/mdr.2018.0471.

Girlich, D., Bonnin, R. A., Dortet, L., & Naas, T. (2020). Genetics of acquired antibiotic resistance genes in *Proteus* spp. Frontiers in microbiology, 11, 256.

Grall, N., Andremont, A., et Armand-Lefèvre, L. (2011). Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse?. Journal des Anti-infectieux, 13(2), 87-102.

### H

Hadar, Y., Harman, G. E., Taylor, A. G., & Norton, J. M. (1983). Effects of pregermination of pea and cucumber seeds and of seed treatment with *Enterobacter cloacae* on rots caused by *Pythium* spp. Phytopathology, 73(9), 1322-1325.

Hafiane, A., and Ravaoarino, M. (2008) [Various typing methods of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients]. Med Mal Infect 38: 238-247. In: Sefraoui, I. E. K. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien. Thèse de doctorat, Université de Tlemcen.

Hidri, N. (2012). Identification d'*Acinetobacter* spp. Au laboratoire. Revue Francophone des Laboratoires, 2012(441), 37-42.

Hirvonen, V. H., Spencer, J., & Van Der Kamp, M. W. (2021). Antimicrobial resistance conferred by OXA-48  $\beta$ -lactamases: towards a detailed mechanistic understanding. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 65(6), e00184-21.

Hu, M., Guo, J., Cheng, Q., Yang, Z., Chan, E. W. C., Chen, S., & Hao, Q. (2016). Crystal structure of *Escherichia coli* originated MCR-1, a phosphoethanolamine transferase for colistin resistance. Scientific reports, 6(1), 38793.

### J

Jamieson, C. E., Lambert, P. A., & Simpson, I. N. (2003). In vitro and in vivo activities of AM-112, a novel oxapenam. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(5), 1652–1657. doi:10.1128/AAC.47.5.1652-1657.2003.

Jean-Noël, J., Guy, L. (2006). *Microbiologie technique : dictionnaire des techniques*. France : Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.

Jehl, F., Chabaud, A., & Grillon, A. (2015). L'antibiogramme: diamètres ou CMI?. *Journal des Anti-infectieux*, 17(4), 125-139.

Joly-Guillou, M. L. (2006). Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie. *Réanimation*, 15(3), 237-240.

Jones, R. N., Huynh, H. K., & Biedenbach, D. J. (2004). Activities of doripenem (S-4661) against drug-resistant clinical pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(8), 3136-3140.

### K

Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123-140.

Kipnis, E., & Guery, B. P. (2010). Colistin revisited. *Antibiotiques*, 12(4), 205-227. Elsevier.

Krir, A., Dhraief, S., Messadi, A. A., & Thabet, L. (2019). Profil bactériologique et résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans un service de réanimation des brûlés durant sept ans. *Annals of burns and fire disasters*, 32(3), 197–202.

Kurupati, P., Chow, C., Kumarasinghe, G., & Poh, C. L. (2004). Rapid detection of *Klebsiella pneumoniae* from blood culture bottles by real-time PCR. *Journal of clinical microbiology*, 42(3), 1337-1340.

### L

Lee, S. Y., Octavia, S., & Chew, K. L. (2019). Detection of OXA-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae with chromID CARBA SMART screening plate. *Pathology*, 51(1), 108-110.

Lehman, D. (2005). Triple sugar iron agar protocols. *American Society for Microbiology*, 1-7.

Lerminiaux, N. A., & Cameron, A. D. (2019). Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Canadian journal of microbiology*, 65(1), 34-44.

Liazid, A. (2012). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du CHU de Tlemcen. Mémoire de magister. Université de Tlemcen.

Linden, P. (2007). Safety profile of meropenem: an updated review of over 6000 patients treated with meropenem. *Drug safety*, 30, 657-668.

Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009). Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical microbiology reviews*, 22(4), 582-610.

Lory, S., & Tai, P. C. (1985). Biochemical and genetic aspects of *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Genetic Approaches to Microbial Pathogenicity*, 53-69.

Loucif, L., Chelaghma, W., Bendjama, E., Cherak, Z., Khellaf, M., Khemri, A., & Rolain, J. M. (2022). Detection of bla OXA-48 and mcr-1 genes in *Escherichia coli* isolates from pigeon (*Columba livia*) in Algeria. *Microorganisms*, 10(5), 975.

Loucif, L., Chelaghma, W., Helis, Y., Sebaa, F., Baoune, R. D., Zaatout, W., & Rolain, J. M. (2018). First detection of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in community-acquired urinary tract infection in Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 12, 115-116.

## M

Marti S., Nait Chabane Y., Alexandre S., Laurent Coquet L., Vila J, Jouenne T., Dé E.(2011). Growth of *Acinetobacter baumannii* in Pellicle Enhanced the Expression of Potential Virulence Factors. *PLoS ONE*. 6: e26030.

Medeiros, M., & Lincopan, N. (2013). Oxacillinase (OXA)-producing *Acinetobacter baumannii* in Brazil: clinical and environmental impact and therapeutic options. *Journal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 49, 391-405.

Meletis, G. (2016). Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Therapeutic advances in infectious disease*, 3(1), 15-21.

Mellouli, A., Maamar, B., Bouzakoura, F., Messadi, A. A., & Thabet, L. (2021). Colonisation Et Infection À *Acinetobacter Baumannii* Dans Une Unité De Réanimation Des Brûlés En Tunisie. *Annals of burns and fire disasters*, 34(3), 218–225.

Mesli, E., Berrazeg, M., Drissi, M., Bekkhoucha, S. N., & Rolain, J. M. (2013). Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. *International Journal of Infectious Diseases*, 17(9), e739–e743. doi:10.1016/j.ijid.2013.02.024.

Mezzatesta, M. L., Gona, F., & Stefani, S. (2012). *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future microbiology*, 7(7), 887–902.

Mielko, K. A., Jabłoński, S. J., Milczewska, J., Sands, D., Łukaszewicz, M., & Młynarz, P. (2019). Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. *World journal of microbiology & biotechnology*, 35(11), 178. doi:10.1007/s11274-019-2739-1.

Minchella, A., Molinari, L., Fougeron, C. D., Lavigne, J. P., Sotto, A., & Bouziges, N. (2008). F-07 Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Serratia marcescens*, *Providencia stuartii* et *Morganella morganii* au CHU de Nîmes: 2002–2006. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 38, S149.

Monteil, H., & Harf-Monteil, C. (2002). *Pseudomonas* et apparentés. *Revue Française des laboratoires*, 2002(343), 31–40.

Muylaert A., Mainil J.G. 2012. Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét*, 156 : 109–123.

### N

Nabti, L. Z., Sahli, F., Hadjadj, L., Ngaiganam, E. P., Lupande-Mwenebitu, D., Rolain, J. M., & Diene, S. M. (2019). Autochthonous case of mobile colistin resistance gene mcr-1 from a uropathogenic *Escherichia coli* isolate in Sétif Hospital, Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 19, 356–357. Doi:10.1016/j.jgar.2019.10.006.

Nabti, L. Z., Sahli, F., Ngaiganam, E. P., Radji, N., Mezaghcha, W., Lupande-Mwenebitu, D., Baron, S. A., Rolain, J. M., & Diene, S. M. (2020). Development of real-time PCR assay allowed describing the first clinical *Klebsiella pneumoniae* isolate harboring plasmid-mediated colistin resistance mcr-8 gene in Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 20, 266–271. doi:10.1016/j.jgar.2019.08.018.

Naif, J., Al-Ghamdi, A., Momenah, A. M., Ashgar, S., Bantun, F., Bahwerth, F. S., ... & Faidah, H. (2023). Prevalence and Antibigram Pattern of *Klebsiella pneumoniae* in a Tertiary Care Hospital in Makkah, Saudi Arabia: An 11-Year Experience. *Antibiotics*, 12(1), 164.

Neonakis, I. K., Samonis, G., Messaritakis, H., Baritaki, S., Georgiladakis, A., Maraki, S., & Spandidos, D. A. (2010). Resistance status and evolution trends of *Klebsiella pneumoniae* isolates in a university hospital in Greece: ineffectiveness of carbapenems and increasing resistance to colistin. *Chemotherapy*, 56(6), 448-452. doi:10.1159/000320943.

Nicolas, J. F., Cousin, F., et Thivolet, J. (2002). Pharmacologie des bêtalactamines. Immunologie clinique et allergologie : compte rendu du séminaire 2002, Faculté de médecine, CHU Lyon-Sud, 30 et 31 mai 2002, 99.

Nolan, L. K., Barnes, H. J., Vaillancourt, J. P., Abdul-Aziz, T., & Logue, C. M. (2013). Colibacillosis. *Diseases of poultry*, 751-805.

Nordmann P. (2006). L'émergence de la résistance plasmidique aux quinolones chez les entérobactéries. *Pathologie. Biologie*. 54 : 7–9.

Nordmann P. (2010). Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. *Medecine sciences : M/S*, 26(11), 950–959. doi : 10.1051/medsci/20102611950.

Nordmann, P., Dortet, L., & Poirel, L. (2012). Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm!. *Trends in molecular medicine*, 18(5), 263-272.

Nordmann, P., & Poirel, L. (2019). Epidemiology and diagnostics of carbapenem resistance in gram-negative bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 69(Supplement\_7), S521-S528.

### O

O'Hara, C. M., Brenner, F. W., & Miller, J. M. (2000). Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical microbiology reviews*, 13(4), 534-546.

Oliveira, J., & Reygaert, W. C. (2022). Gram-Negative Bacteria. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

O'Neill, J. (2016). Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations.

Ovchinnikova, O. G., Rozalski, A., Liu, B., & Knirel, Y. A. (2013). O-antigens of bacteria of the genus *Providencia*: structure, serology, genetics, and biosynthesis. *Biochemistry (Moscow)*, 78, 798-817.

### P

Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(11), 4943-4960.

Parisi, S. G., Bartolini, A., Santacatterina, E., Castellani, E., Ghirardo, R., Berto, A., ... & Palù, G. (2015). Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* strains producing carbapenemases and increase of resistance to colistin in an Italian teaching hospital from January 2012 to December 2014. *BMC infectious diseases*, 15(1), 1-10.

Pegues, D. A. (2017). *Burkholderia cepacia* complex. *Infectious Disease and Antimicrobial Agents*.

Peigne, C., Bidet, P., Mahjoub-Messai, F., Plainvert, C., Barbe, V., Médigue, C., ... & Bonacorsi, S. (2009). The plasmid of *Escherichia coli* strain S88 (O45: K1: H7) that causes neonatal meningitis is closely related to avian pathogenic *E. coli* plasmids and is associated with high-level bacteremia in a neonatal rat meningitis model. *Infection and immunity*, 77(6), 2272-2284.

Peterson, J. W. (1996). Bacterial Pathogenesis. In S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology*. (4th ed.). University of Texas Medical Branch at Galveston.

Pilly, E. (2018). *Maladies infectieuses et tropicales* (26<sup>e</sup> éd.) Paris : Alinéa plus.

Poirel, L., Héritier, C., Tolün, V., & Nordmann, P. (2004). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(1), 15-22.

Poirel, L., Pitout, J. D., & Nordmann, P. (2007). Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiology*, 2(5), 501–512. doi:10.2217/17460913.2.5.5010.

Poole, K. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to the max. *Frontiers in microbiology*, 2, 65.

### Q

Queenan, A. M., & Bush, K. (2007). Carbapenemases: the versatile  $\beta$ -lactamases. *Clinical microbiology reviews*, 20(3), 440-458.

### R

Redman, R., & File Jr, T. M. (2009). Safety of intravenous infusion of doripenem. *Clinical infectious diseases*, 49(Supplement\_1), S28-S29.

Robin, F., Aggoune-Khinache, N., Delmas, J., Naim, M., & Bonnet, R. (2010). Novel VIM metallo- $\beta$ -lactamase variant from clinical isolates of Enterobacteriaceae from Algeria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(1), 466-470.

### S

Saly, M., Jayol, A., Poirel, L., Megraud, F., Nordmann, P., & Dubois, V. (2017). Prevalence of faecal carriage of colistin-resistant Gram-negative rods in a university hospital in western France, 2016. *Journal of medical microbiology*, 66(6), 842-843. doi.org/10.1099/jmm.0.000497

Schaffer, J. N., & Pearson, M. M. (2015). *Proteus mirabilis* and Urinary Tract Infections. *Microbiologyspectrum*, 3(5), 10.1128/microbiolspec.UTI-0017-2013. doi :10.1128/microbiolspec.UTI-0017-2013.

Sefraoui, I. E. K. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen.

Shah, M. M., Odoyo, E., & Ichinose, Y. (2019). Epidemiology and pathogenesis of *Providencia alcalifaciens* infections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 101(2), 290.

Sirot, J. (1996). Detection of extended-spectrum plasmid-mediated  $\beta$ -lactamases by disk diffusion. *Clinical Microbiology and Infection*, 2, S35-S39.

Souna, D., Sefraoui, I., & Drissi, M. (2011). Résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbes (Algérie). *Microbiol. Hyg. Alim*, 23, 37-41.

Sussman, M. (Ed.). (1997). *Escherichia coli: mechanisms of virulence*. Cambridge University Press.

### T

Tavares, M., Kozak, M., Balola, A., & Sá-Correia, I. (2020). *Burkholderia cepacia* complex bacteria: a feared contamination risk in water-based pharmaceutical products. *Clinical microbiology reviews*, 33(3), e00139-19.

Tilahun, M., Kassa, Y., Gedefie, A., & Ashagire, M. (2021). Emerging Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infection, Its Epidemiology and Novel Treatment Options: A Review. *Infection and drug resistance*, 14, 4363–4374. [doi:10.2147/IDR.S337611](https://doi.org/10.2147/IDR.S337611).

Tomaras A.P., Dorsey C.W., Edelman R.E., Actis, L.A. (2003). Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. *Microbiology*. 149: 3473-3484.

Touati, M., Diene, S. M., Dekhil, M., Djahoudi, A., Racherache, A., & Rolain, J. M. (2013). Dissemination of a class I integron carrying VIM-2 carbapenemase in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from a hospital intensive care unit in Annaba, Algeria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(5), 2426.

Touati, A., & Mairi, A. (2019). Carbapenemase-producing Enterobacterales in Algeria: a systematic review. *Microbial Drug Resistance*, 26(5), 475-482. [doi:10.1089/mdr.2019.0320](https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0320).

### V

Van Alst, N.E., Wellington, M., Clark, V.L., Haidaris, C.G., and Iglewski, B.H. (2009) Nitrite reductase NirS is required for type III secretion system expression and virulence in the human monocyte cell line THP-1 by *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun* 77: 4446-4454.

Verhaegen, J. (2004). Les Entérobactéries. *Bactériologie*. Elsevier.

### W

Wolff, M., Joly-Guillou, M. L., & Pajot, O. (2008). Le point sur les carbapénèmes. *Réanimation*, 17(3), 242-250.

World Health Organization. (2018). Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS): the detection and reporting of colistin resistance (No. WHO/WSI/AMR/2018.4). World Health Organization.

### Y

Yadav, S. K., Bhujel, R., Mishra, S. K., Sharma, S., & Sherchand, J. B. (2021). Carbapenem Resistance in Non-Fermentative Gram-Negative Bacilli Isolated from Intensive Care Unit Patients of a Referral Hospital. *Journal of Nepal Health Research Council*, 19(1), 55-61.

### Z

Zaid, A. M., Bonasera, J. M., & Beer, S. V. (2011). First report of *Enterobacter* bulb decay of onions caused by *Enterobacter cloacae* in New York. *Plant Disease*, 95(12), 1581-1581.

Zaidi, F. Z., Dali-Yahia, R., Zenati, K., Yazid, L., Lounes, M., Aberkane, S., Jean Pierre, H., Barraud, O., Godreuil, S., & Touati, A. (2020). Characterization of VIM-4 Producing Clinical *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Western Algeria: Sequence Type and Class 1 Integron Description. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 26(12), 1437–1441. doi.org/10.1089/mdr.2019.0225.

Zhanel, G. G., Wiebe, R., Dilay, L., Thomson, K., Rubinstein, E., Hoban, D. J., ... & Karlowsky, J. A. (2007). Comparative review of the carbapenems. *Drugs*, 67, 1027-1052.

# *ANNEXES*

---

**Annexe 1****1.1. Préparation des boîtes de sélection de MacConkey + ertapénème à 0.5µg/ml**

- 0.5g de l'ertapénème a été pesé et mélangé avec 50ml d'eau distillée stérile pour préparer une solution mère d'une concentration de 10000 µg/ml.
- La solution mère a été diluée à 1/100 pour avoir une concentration de 100µg/ml.
- La solution d'ertapénème de 100µg/ml a été diluée à 1/10 pour avoir une concentration de 10µg/ml.
- Enfin, dans des boîtes de Petri 1ml de solution de l'ertapénème de concentration de 10µg/ml a été mélangée avec 19ml de MacConkey pour avoir une concentration finale de 0.5µg/ml.

**1.2. Préparation des boîtes de sélection de MacConkey + la colistine à 2µg/ml**

- 40mg de la colistine a été pesé et mélangé avec 20ml d'eau distillée stérile pour préparer une solution mère d'une concentration de 2000 µg/ml.
- La solution mère a été diluée à 1/10 pour avoir une concentration de 200µg/ml.
- La solution de la colistine de 200µg/ml a été diluée à 1/5 pour avoir une concentration de 40µg/ml.
- Enfin, dans des boîtes de pétries 1ml de solution de la colistine de concentration de 40µg/ml a été mélangée avec 19ml de MacConkey pour avoir une concentration finale de 2µg/ml.

## Annexe 2

Tableau de lecture d'une galerie API 20 E.

Tests	Composants actifs	Réactions enzymatique	Résultats	
			Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
<b>ADH</b>	L-arginine	Arginine DiHydrolase	Jaune	Rouge/orangé
<b>LDC</b>	L-lysine	Lysine DéCarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
<b>ODC</b>	L-ornithine	Ornithine DéCarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
<b>CIT</b>	Trisodium citrate	Utilisation du CITrate	Vert pâle/Jaune	Bleu-vert / Bleu
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Sodium thiosulfate	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore / Grisâtre	Dépôt noir / fin liseré
<b>URE</b>	Urée	UREase	Jaune	Rouge/orangé
<b>TDA</b>	L-tryptophane	Tryptophane DésAminase	Jaune	Marron-rougeâtre <sup>(*)</sup>
<b>IND</b>	L-tryptophane	Production d'INDole	Incolore Vert pâle/ Jaune	Rose <sup>(*)</sup>
<b>VP</b>	Sodium pyruvate	Production d'acétoïne (Voges Proskauer)	Incolore	Rose/ rouge <sup>(**)</sup>
<b>GEL</b>	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	D-glucose	Fermentation/ oxidation GLUcose	Bleu/ bleu vert	Jaune / Jaune gris
<b>MAN</b>	D-mannitol	Fermentation/ oxidation MANnitol	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation/ oxidation INOsitol	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>SOR</b>	D-sorbitol	Fermentation/ oxidation SORbitol	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>RHA</b>	L-rhamnose	Fermentation/ oxidation RHAgnose	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>SAC</b>	D-saccharose	Fermentation/ oxidation SACcharose	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>MEL</b>	D-melibiose	Fermentation/ oxidation MELibiose	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation/ oxidation AMYgdaline	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>ARA</b>	L-arabinose	Fermentation/ oxidation ARAbinose	Bleu/ bleu vert	Jaune

(\*) : Réaction immédiat ; (\*\*) : VP 1 + VP 2 / 10 minutes

## Annexe 3

Tableau de lecture d'une galerie API 20 NE.

Tests	Composants actifs	Reactions/enzymes	Resultats	
			Negatif	Positif
N03	Potassium nitrate	Réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min	
			Incolore	Rose-rouge
		Réduction des Nitrates en azote	Zn 15 min	
			Rose	Incolore
TRP	L-tryptophane	Formation d'indole (TRyptoPhane)	JAMES / immédiat	
			Incolore Vert pâle / jaune	Rose
<u>GLU</u>	D-glucose	Fermentation (GLUcose)	Bleu à vert	Jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	Arginine DIHydrolase	Jaune	Orange / rose / rouge
<u>URE</u>	Urée	UREase	Jaune	Orange / rose / rouge
ESC	Esculine citrate de fer	Hydrolyse ( $\beta$ -glucosidase) (ESCuline)	Jaune	Gris / marron / noir
GEL	Gélatine (origine bovine)	Hydrolyse (protéase) (GELatine)	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl $\beta$ D-galactopyranoside	$\beta$ -galactosidase (Para-NitroPhényl- $\beta$ D- Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune
GLU	D-glucose	Assimilation (GLUcose)	Transparence	Trouble
ARA	L-arabinose	Assimilation ( ARABinose)	Transparence	Trouble
MNE	D-mannose	Assimilation (ManNosE)	Transparence	Trouble
MAN	D-mannitol	Assimilation (MANnitol)	Transparence	Trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	Assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	Transparence	Trouble
MAL	D-maltose	Assimilation (MALtose)	Transparence	Trouble
GNT	Potassium gluconate	Assimilation (potassium GlucoNaTe)	Transparence	Trouble
CAP	Acide caprique	Assimilation (acide CAPrique)	Transparence	Trouble
ADI	Acide adipique	Assimilation (acide ADIrique)	Transparence	Trouble
MLT	Acide malique	Assimilation (MaLaTe)	Transparence	Trouble
CIT	Trisodium citrate	Assimilation (trisodium CITrate)	Transparence	Trouble
PAC	Acide phénylacétique	Assimilation (PhénylACétique)	Transparence	Trouble

## Annexe 4. Concentration et diamètre critique des antibiotiques utilisés (CA-SFM 2022).

## Entérobactéries

Antibiotiques	Symbole	Charge du disque (µg)	Concentrations critiques (mg/l)		Diamètre critiques (mm)		
			S ≤	R >	S ≤	R >	
<b>β- lactamines</b>	Ampicilline	AMP	10	8	8	14	14
	Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	20-10	8	8	19	19
	Pipéracilline	PIP	30	8	8	20	20
	Céfalotine	CF	30	8	32	18	12
	Céfoxitine	FOX	30	8	8	18	18
	Ceftriaxone	CRO	30	1	2	25	22
	Céfépime	FEP	30	1	4	27	24
	Aztréonam	ATM	30	1	4	26	21
	Imipénème	IPM	10	2	4	22	19
	Méropénème	MRP	10	2	8	22	16
<b>Aminosides</b>	Gentamicine	GN	10	8	8	18	18
	Tobramycine	TM	10	2	2	16	16
<b>Fluoroquinolones</b>	Ofloxacine	OFX	5	0.25	0.5	24	22

*Pseudomonas spp*

Antibiotiques		Symbole	Charge du disque ( $\mu\text{g}$ )	Concentrations critiques (mg/l)		Diamètre critiques (mm)	
				S $\leq$	R $>$	S $\leq$	R $>$
<b><math>\beta</math>- lactamines</b>	Ticarcilline	TIC	75	0.001	16	50	18
	Ticarcilline + Acide clavulanique	TCC	75-10	0.001	16	50	18
	Céftazidime	CAZ	10	0.001	8	50	17
	Céfépime	FEP	30	0.001	8	50	21
	Aztréonam	ATM	30	0.001	16	50	18
	Imipénème	IPM	10	0.001	4	50	20
	Méropénème	MRP	10	2	8	20	14
<b>Aminosides</b>	Gentamicine	GN	15	4	4	16	16
	Tobramycine	TOB	10	2	2	18	18
<b>Fluoroquinolones</b>	Ciprofloxacine	CIP	5	0.001	0.5	50	26

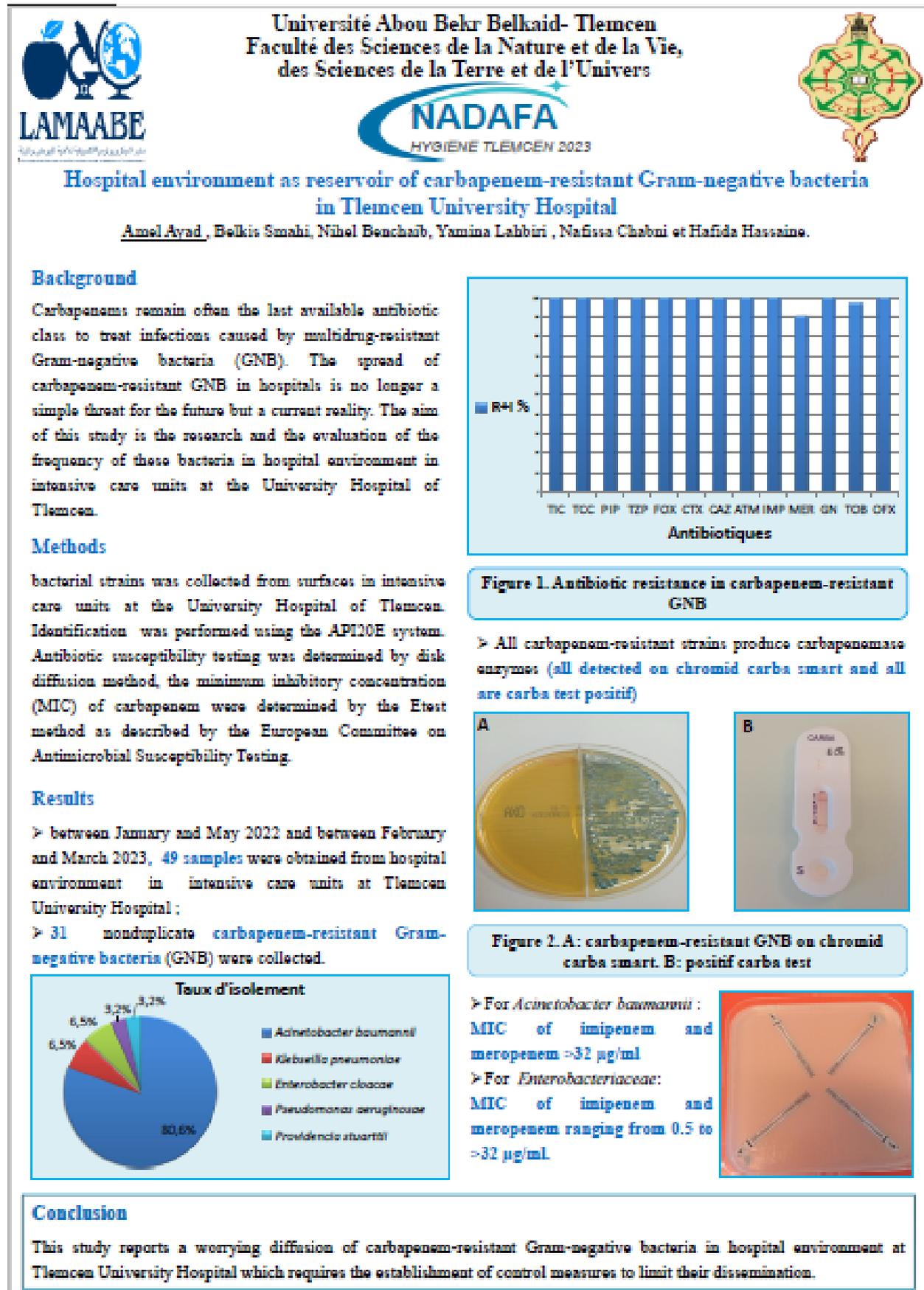
*Acinetobacter spp*

Antibiotiques		Symbole	Charge du disque ( $\mu\text{g}$ )	Concentrations critiques (mg/l)		Diamètre critiques (mm)	
				S $\leq$	R $>$	S $\leq$	R $>$
<b><math>\beta</math>- lactamines</b>	Ticarcilline	TIC	75	16	64	20	15
	Ticarcilline + Acide clavulanique	TCC	75-10	16	64	20	15
	Céftazidime	CAZ	30	8	16	18	15
	Céfépime	FEP	30	8	16	18	15
	Imipénème	IPM	10	2	4	24	21
	Méropénème	MRP	10	2	8	21	15
<b>Aminosides</b>	Gentamicine	GN	10	4	4	17	17
	Tobramycine	TOB	10	4	4	17	17
<b>Fluoroquinolones</b>	Ciprofloxacine	CIP	5	0.001	0.5	50	26

**Annexe 5. Répartition des souches résistantes aux carbapénèmes et à la colistine selon le type de prélèvement**

Prélèvement	Nombre de prélèvement	Nombre de souche total	Nombre de souche résistante au carbapénème	Nombre de souche résistante à la colistine
Sonde trachéal	14	41	23	19
Sonde urinaire	01	0	0	0
Sonde nasogastrique	05	13	03	07
Plaies	01	02	0	01
Cathéter	07	03	0	01
Prélèvement de surface	14	17	10	07

## Annexe 6. Poster



## ملخص

يشكل الانتشار السريع للعصيات سالبة الجرام مشكلة كبيرة داخل مؤسسات الرعاية الصحية ، حيث تمثل مقاومتها المتزايدة للمضادات الحيوية ، ولا سيما الكاربابينام والكوليسيتين ، تحديا كبيرا للتكفل بالعديوى المرتبطة بالرعاية الصحية. بين مارس وماي 2023، تم عزل ما مجموعه 54 سلالة على مستوى مصلحة الإنعاش ومصلحة طب حديثي الولادة بالمستشفى الجامعي لتلمسان. من بين هذه السلالات، كانت 36 مقاومة للكاربابينيمات مع غالبية أسيتنوباكتر بوماني (39%) تليها بسودوموناس ايروجينوزا (33%) والكليسييلة الرئوية (19%)، وكانت 35 سلالة مقاومة للكوليسيتين مع غالبية بسودوموناس ايروجينوزا (37%) تليها الكليسييلة الرئوية (29%). لوحظت في هذه الدراسة معدلات عالية من المقاومة لمعظم المضادات الحيوية التي تم اختبارها (البينالاکتامين ، الأمينوزيد ، الكينولون والكوليسيتين) ، مما يدل على وجود سلالات متعددة المقاومة للأدوية. ترجع مقاومة السلالات المدروسة للكاربابينيم إلى إنتاج انزيمات الكاربابينيماز . من الجدير بالذكر أنه 28 ٪ من هذه السلالات هي البكتيريا المعوية المنتجة للكاربابينيماز التي تم رصدها لأول مرة في غرب الجزائر في هذه الدراسة .

**الكلمات المفتاحية:** عضية سالبة الجرام ، بكتيريا معوية ، مقاومة ، كاربابينام، كوليسيتين ، المستشفى الجامعي لتلمسان.

## Résumé

La diffusion rapide des bacilles à Gram négatif (BGN) constitue un problème majeur au sein des établissements de santé. Leur résistance croissante aux antibiotiques notamment aux carbapénèmes et à la colistine représente un défi significatif pour la prise en charge des infections liées aux soins. Entre Mars et Mai 2023, un total de 54 souches de BGN a été isolé au niveau des services de réanimation et de néonatalogie dans le CHU de Tlemcen. Parmi celles-ci, 36 étaient résistantes aux carbapénèmes avec une prédominance d'*Acinetobacter baumannii* (39%) suivie de *Pseudomonas aeruginosa* (33%) et de *Klebsiella pneumoniae* (19%). 35 souches étaient résistantes à la colistine dont *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce majoritaire (37%) suivie de *Klebsiella pneumoniae* (29%). Des taux élevés de résistance pour la plupart des antibiotiques testés ( $\beta$ -lactamines, aminosides, quinolones et colistine) ont été observés, témoignant la présence de souches multirésistantes. La résistance des souches étudiées aux carbapénèmes est due à la production de carbapénémase, soulignant que parmi ces souches 28% sont des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) détectées pour la première fois dans l'Ouest algérien et considérées comme des Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRé).

**Mots clés :** Bacilles à Gram négatif, entérobactéries, résistance, carbapénèmes, colistine, CHU de Tlemcen.

## Abstract

The rapid spread of Gram-negative bacilli (GNB) constitutes a major problem within healthcare institutions. Their increasing resistance to antibiotics, in particular carbapenems and colistin, represents a significant challenge for the management of healthcare-related infections. Between March and May 2023, a total of 54 BGN strains were isolated in the intensive care unit and neonatology wards at Tlemcen University Hospital. 36 of these strains were resistant to carbapenems with a predominance of *Acinetobacter baumannii* (39%) followed by *Pseudomonas aeruginosa* (33%) and *Klebsiella pneumoniae* (19%). 35 strains were resistant to colistin of which *Pseudomonas aeruginosa* is the majority species (37%) followed by *Klebsiella pneumoniae* (29%). High rates of resistance for most of the antibiotics tested ( $\beta$ -lactams, aminoglycosides, quinolones and colistin) were observed, testifying to the presence of multidrug-resistant strains. The resistance of the studied strains to carbapenems is due to the production of carbapenemase, highlighting that among these strains 28% are carbapenemase-producing enterobacterales (CPE) detected for the first time in Western Algeria and considered as Emerging Highly Resistant Bacteria (eHRB).

**Key words:** Gram-negative bacilli, enterobacterales, resistance, carbapenems, colistin, Tlemcen University Hospital.