

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE & POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR & DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

## UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE,  
DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE

« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-Chimie,  
Synthèse et Activité Biologique »

THESE DE DOCTORAT

THEME

**Étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries  
à Gram négatif au niveau du CHU de Tlemcen**

Présentée par

*Mme Baba Ahmed Zahira Zakia*

*Ep Kazi Tani*

<b>Pr Boucherit K.</b>	<b>Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen</b>	<b>Président du jury</b>
<b>Pr Arlet G.</b>	<b>Université Pierre et Marie Curie, Paris</b>	<b>Examineur</b>
<b>Pr Bakour R.</b>	<b>Université Houari Boumédiène, Alger</b>	<b>Examineur</b>
<b>Dr Hassaine H.</b>	<b>Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Dr Drissi M.</b>	<b>Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen</b>	<b>Directeur de Thèse</b>

Année Universitaire 2012-2013

# Remerciements

Le travail présenté dans cette thèse de doctorat a été réalisé au sein de trois laboratoires : «Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique» (LAAPSAB) de l'Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie ; «Bactériologie» site Saint Antoine, Département de Bactériologie, Faculté de Médecine, Université Pierre et Marie Curie (UPMC), Paris, France et « Bactériologie-Hygiène » du CHU d'Angers, France.

J'adresse mes vifs remerciements à mon Directeur de Thèse, le Docteur Mourad DRISSI. Je le remercie pour son encadrement, ses encouragements et ses conseils tout au long de ces années. Je le remercie également de m'avoir fait confiance pour la réalisation de ce travail.

Mes vifs remerciements s'adressent aussi au Professeur Kébir BOUCHERIT qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury de cette thèse. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude et respect.

Je tiens à exprimer également mes sincères remerciements et ma profonde gratitude au Professeur Guillaume ARLET, Responsable du Laboratoire de «Bactériologie» site Saint Antoine de l'Université Pierre et Marie Curie. A ses côtés, j'ai pu bénéficier de ses précieux conseils, son sens critique, sa rigueur dans le travail et sa curiosité scientifique. Je lui suis très reconnaissante de m'avoir offert l'opportunité d'effectuer ce travail au sein de son équipe de recherche et d'avoir mis à ma disposition les moyens nécessaires à son bon déroulement. Je le remercie également d'avoir accepté l'invitation comme examinateur de cette thèse.

Mes remerciements s'adressent aussi au Professeur Rabah BAKOUR et au Docteur Hafida HASSAINE pour le temps précieux qu'ils ont accordé à ce travail en acceptant de l'examiner et de le juger. Je les remercie également pour leurs encouragements et leurs précieux conseils.

J'exprime mes sincères remerciements au Professeur Zahia BOUCHERIT et au Professeur Marie-Laure JOLY-GUILLOU, Directrices des Laboratoires «Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique» de l'Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen et de « Bactériologie-Hygiène » du CHU d'Angers. Je les remercie pour la confiance qu'elles m'ont accordée en m'accueillant dans leur laboratoire, leur implication et leurs encouragements. Je les remercie également d'avoir mis à ma disposition les moyens nécessaires au bon déroulement de cette thèse.

J'adresse mes vifs et chaleureux remerciements au Professeur Dominique DECRE. Je la remercie pour son aide précieuse pour la réalisation du MLST et l'étude des gènes de virulence de *Klebsiella pneumoniae*. Je la remercie également pour ses conseils et son aide pour la rédaction de l'article.

Mes vifs remerciements s'adressent aussi au Professeur Carole LEMARIE et au Professeur Mathieu EVEILLARD. Je leur suis très reconnaissante pour le temps qu'ils m'ont consacré malgré leurs nombreuses obligations et responsabilités lors de mon séjour à Angers. Une pensée chaleureuse au Professeur Jane COTTIN, elle était pour moi un modèle de rigueur scientifique.

Mes remerciements s'adressent également au Docteur Yamina MESSAI. Je la remercie pour m'avoir accueillie dans son équipe, de m'avoir initiée à la biologie moléculaire et de m'avoir guidée pour la réalisation de ce travail. Je la remercie également pour ses précieux conseils et ses encouragements tout au long de la réalisation de cette thèse.

Je remercie également le Professeur Patrick NORDMANN et le Professeur Laurent POIREL pour avoir accepté de caractériser les souches d'*Acinetobacter baumannii*.

Ma gratitude s'adresse aussi à Nathalie GENEL pour ses précieux conseils dans les différents rouages de la biologie moléculaire, pour sa gentillesse et tout le temps qu'elle a bien voulu m'accorder. Je la remercie également pour son accueil toujours chaleureux au sein du laboratoire.

Mes remerciements s'dressent aussi à l'ensemble des techniciens du laboratoire de « Bactériologie » UPMC, pour leur aide et sympathie durant ces deux dernières années.

Je souhaite remercier également Ana pour sa bonne humeur et pour les petites pauses café qui s'imposaient, mais aussi Lynda, Elodie et tous mes collègues et amis de pailleasse.

Ma profonde gratitude à Catherine RAMONT, pour m'avoir formée au champ pulsé, dont tout le monde connaît toute sa complexité. Je la remercie pour sa gentillesse, sa disponibilité durant ces années et son amitié.

Je remercie également Catherine QUINQUENEAU ainsi que tous les techniciens du Laboratoire de « Bactériologie-Hygiène » du CHU d'Angers pour leur aide et accueil.

Mes remerciements s'adressent aussi à l'ensemble des techniciens et membres du Laboratoire LAAPSAB pour leur disponibilité et sympathie.

Je souhaite remercier également le Docteur Rachida BENHADDOUCHE ainsi que tous les infirmiers avec qui j'ai eu le plaisir de travailler. Je les remercie de m'avoir facilité le recueil des souches bactériennes sans lesquelles ce travail n'aurait pu être réalisé.

Je remercie aussi tous mes collègues et amis ainsi que l'ensemble du personnel, responsables, techniciens et employés d'administration du Département de Biologie de la Faculté SNV-STU pour les nombreuses aides fournies durant ces dernières années.

Mes vifs remerciements s'adressent à Mme Genevieve ANTILOGUS-REMOND pour sa gentillesse et sa générosité. Je la remercie de m'avoir offert un toit à Paris, des repas chauds pendant les rudes journées d'hiver et surtout pour tous ses encouragements et précieux conseils dans la vie.

Je tiens à remercier chaleureusement mon frère et mes beaux-frères, mes sœurs et mes belles sœurs, mes neveux et mes nièces pour leurs encouragements et leurs soutiens tout au long de cette thèse. Une pensée chaleureuse à mon défunt beau-frère « Lotfi ».

Enfin, mes remerciements les plus forts s'adressent à mes parents et mon époux, pour leur irremplaçable et inconditionnel soutien, mais aussi, pour leurs encouragements, leur soutien moral afin d'écartier les doutes et partager les joies, pour leur confiance, mais surtout pour avoir cru à mes ambitions, car dans la vie tout est possible ; cette thèse est aussi la leur.

Dans la vie il y a trois facteurs : le talent, la chance et le travail.

Avec deux de ces facteurs, on peut réussir.

Mais l'idéal est de disposer des trois.

(De Bernard WERBER)

Je dédie cette Thèse.

A mes parents.

A mon époux.

A ma famille.

# Tables des matières

<b>Résumé</b>	<b>1</b>
<b>Introduction générale</b>	<b>4</b>
<b>Première partie : Synthèse bibliographique</b>	<b>7</b>
1. Résistance aux $\beta$ -lactamines	8
2. Résistance aux aminosides	17
3. Résistance aux quinolones	20
4. Résistance aux sulfamides	24
<b>Deuxième partie : Matériel et méthodes</b>	<b>27</b>
1. Lieu de l'étude	27
2. Prélèvements	27
3. Identification	27
4. Sensibilité aux antibiotiques	27
5. Détection phénotypique des mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines	28
5.1. Test de détection de BLSE	28
5.2. Test de détection de carbapénémases	28
6. Extraction de l'ADN bactérien total	29
7. Typage moléculaire des souches d'entérobactéries	29
7.1. ERIC et rep-PCR	29
7.2. Phylogénie d' <i>E.coli</i>	29
7.3. MLST ( <i>K. pneumoniae</i> )	29

8. Typage moléculaire des souches d' <i>A. baumannii</i>	30
9. Identification des gènes de résistance aux antibiotiques	30
10. Séquençage	30
11. Identification des gènes de virulence chez <i>K. pneumoniae</i>	31
12. Conjugaison	31
13. Analyse des plasmides	31
<b>Troisième partie : Résultats et discussion</b>	<b>32</b>
<b>Premier chapitre : Entérobactéries</b>	<b>32</b>
1. Résultats	32
1.1. Répartition des souches identifiées	32
1.2. Sensibilité aux antibiotiques	33
1.3. Typage des souches d'entérobactéries	33
1.4. Identification des gènes de virulence chez les clones prédominants de <i>K. pneumoniae</i>	34
1.5. Identification des gènes de résistance aux antibiotiques	35
1.6. Conjugaison	37
1.7. Identification des séquences <i>spacer</i> et des groupes d'incompatibilité des plasmides	38
2. Discussion	41
<b>Deuxième chapitre : <i>Acinetobacter baumannii</i></b>	<b>45</b>
1. Résultats	45
1.1. Sensibilité aux $\beta$ -lactamines	45
1.2. Détection des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines	46
1.3. Typage des souches d' <i>A. baumannii</i>	48
1.4. Recherche des gènes de résistance aux $\beta$ -lactamines	49
2. Discussion	50

<b>Conclusion générale</b>	<b>52</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>55</b>

# Liste des tableaux

Tableau 1. $\beta$ -lactamases identifiées en Algérie	15
Tableau 2. Déterminants de résistance aux aminosides et aux quinolones identifiés en Algérie	23
Tableau 3. Distribution des gènes de résistance aux $\beta$ -lactamines et des déterminants de résistance associés chez les souches d'entérobactéries isolées à l'Hôpital de Tlemcen (Avril 2008 – Mars 2010)	39

# Liste des figures

Figure 1. Carte de l'Algérie montrant la localisation géographique des différentes enzymes décrites	26
Figure 2. Image de synergie chez une souche de <i>K. pneumoniae</i>	33
Figure 3. Résultat de la PCR phylogénie <i>E.coli</i>	34
Figure 4. Résultat de la Multiplex virulence ( <i>mrKD, ycfM, IroN</i> ) de <i>K. pneumoniae</i>	35
Figure 5. Résultat de la Multiplex virulence ( <i>entB, allS, ybtS</i> ) de <i>K. pneumoniae</i>	35
Figure 6. Résultat de la PCR <i>aac(3')-II</i>	36
Figure 7. Résultat de la PCR <i>aac(6')-Ib-cr</i>	36
Figure 8. Résultat de la PCR <i>qnrB</i>	36
Figure 9. Résultat de la multiplex <i>sul1/sul2</i>	37
Figure 10. Résultat de la PCR de la séquence <i>spacer</i>	38
Figure 11. Résultat de la PCR IncL/M	38
Figure 12. Sensibilité aux $\beta$ -actamines chez les souches d' <i>A. baumannii</i> catégorisées IPM S	46
Figure 13. Sensibilité aux $\beta$ -actamines chez les souches d' <i>A. baumannii</i> catégorisées IPM R	46
Figure 14. Résultat du test de l'accroissement de la zone d'inhibition	47
Figure 15. Résultat du test de Hodge	47
Figure 16. Dendrogramme de souches d' <i>A. baumannii</i> sensibles à l'imipénème (IPM S)	48
Figure 17. Dendrogramme de souches d' <i>A. baumannii</i> résistantes à l'imipénème (IPM R)	48

# Résumé

La progression des résistances bactériennes aux antibiotiques confronte les médecins à des infections difficiles à traiter et pose un problème de santé publique. Les bactéries résistantes sont souvent la cause d'infections nosocomiales aggravant le pronostic des malades, prolongeant leur hospitalisation et augmentant les coûts des traitements. En milieu hospitalier, la large utilisation des antibiotiques et l'environnement favorable aux échanges de matériel génétique entre bactéries sont propices au développement des résistances bactériennes multiples.

Au cours de cette thèse, nous abordons le problème de la résistance aux antibiotiques chez des souches cliniques et environnementales d'entérobactéries et d'*A. baumannii* isolées au niveau des services de réanimation et de chirurgie du CHU de Tlemcen.

Pour les souches d'entérobactéries (17 *Escherichia coli*, 50 *Klebsiella pneumoniae* et 4 *Enterobacter cloacae*), le séquençage a permis d'identifier les gènes de résistance *bla*<sub>CTX-M-3</sub>, *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *aac(3')-II*, *aac(6')-Ib-cr*, *qnrB2*, *sul1* et *sul2* et les gènes cassettes *aadA2*, *dfrA1* et *dfrA12*. La dissémination du gène *bla*<sub>CTX-15</sub> au niveau du CHU de Tlemcen a été reliée à la circulation des clones épidémiques de *K. pneumoniae* ST15 et ST931 et au transfert de plasmides entre souches non reliées. La caractérisation de la séquence *spacer* entre *ISEcp1* et *bla*<sub>CTX-M-15</sub> a permis d'individualiser 2 types de populations. Une qui dérive du CTX-M-3 sous un contexte clinique algérien et une qui est universellement trouvée.

Pour les souches d'*A. baumannii*, le séquençage a permis d'identifier la carbapénémase OXA-58 chez 16 souches résistantes à l'imipénème. Le plasmide portant le gène *bla*<sub>OXA-58</sub>, décrit dans cette étude, a été lié à la diffusion rapide de la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen.

**Mots clés :** Entérobactéries, *A. baumannii*, Résistance aux antibiotiques, Epidémiologie.

## ملخص

الزيادة في مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية يعرض الأطباء للصعاب في علاج الالتهابات ويشكل مشكلة صحية عامة. البكتيريا المقاومة غالبا ما تكون سببا في عدوى المرضى في المستشفيات وإطالة الاستشفاء وزيادة تكاليف العلاج. في المستشفيات الاستخدام الواسع النطاق للمضادات الحيوية والبيئة الداعمة لتبادل المادة الوراثية بين البكتيريا أدى إلى تطوير سلالات بكتيرية مقاومة.

في هذه الدراسة عالجنا مشكلة مقاومة المضادات الحيوية في سلالات السريرية والبيئية للمعاويات والأستوباكتر بوماني في وحدات العناية المركزة والجراحة في مستشفى جامعة تلمسان.

في سلالات البكتيريا المعوية (17 الإشريكية القولونية 50 الكلبسيلة الرئوية 4 الأمعائية المذرقية) أظهر التنميط الجزئي للمستقرات الطبيعية الإستنساخية الجينات المقاومة *dfraA12, dfraA1, aadA2, sul2, sul1, qnrB2, aac(6')-Ib-cr* و *aac(3')-II, bla<sub>CTX-M-15</sub>, bla<sub>CTX-M-3</sub>*. الرئوية ST931, ST15 ونقل البلازميد بين سلالات غير ذات صلة. توصيف المنطقة المتوسطة بين المتواليات *ISEcpI* و الجين *bla<sub>CTX-M-15</sub>* أظهر نوعين من الجينات واحدة مستمدة من *bla<sub>CTX-M-3</sub>* و الأخرى موجودة عالميا.

في سلالات الأستوباكتر بوماني أظهر التنميط الجزئي للمستقرات الطبيعية الإستنساخية الكاربينيماز OXA-58 في 16 سلالات مقاومة للإمبينام. في هذه الدراسة تم إظهار أن البلازميد الحامل للجين *bla<sub>OXA-58</sub>* كان له علاقة بالانتشار السريع للمقاومة للإمبينام في سلالات الأستوباكتر بوماني في وحدة العناية المركزة في مستشفى جامعة تلمسان.

**كلمات مفتاحية :** البكتيريا المعوية, أستوباكتر بوماني, مقاومة المضادات الحيوية, علم الأوبئة.

# Abstract

The increase in bacterial resistance to antibiotics confronts doctors to treat difficult infections and involves a public health problem. Resistant bacteria are often the cause of nosocomial infections which make worse prognosis patients, prolong their hospitalization and increase treatment costs. In hospitals, the widespread use of antibiotics and favourable environment for exchange of genetic material between bacteria are propitious to the development of multiple bacterial resistance.

In this thesis, we tackle the problem of antibiotic resistance in clinical and environmental strains of Enterobacteriaceae and *A. baumannii* isolated in intensive care unit and surgery ward of the University Hospital of Tlemcen.

For Enterobacteriaceae strains (17 *Escherichia coli*, 50 *Klebsiella pneumoniae* and 4 *Enterobacter cloacae*) sequencing allowed to identify resistance genes *bla*<sub>CTX-M-3</sub>, *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *aac(3)-II*, *aac(6)-Ib-cr*, *qnrB2*, *sul1* and *sul2* and gene cassettes *aadA2*, *dfrA1* and *dfrA12*. The spread of the gene *bla*<sub>CTX-15</sub> at the University Hospital of Tlemcen was assigned to the epidemic clones of *K. pneumoniae* ST15 and ST931 and to genetic transit of plasmids among unrelated strains. The characterization of the *spacer* region between the *ISEcp1* and *bla*<sub>CTX-M-15</sub> allowed to individualize two types of populations. One that derived from the CTX-M-3 under algerian clinical context and one that is universally found.

For the strains of *A. baumannii*, sequencing allowed to identify the carbapenemase OXA-58 in 16 resistant strains to imipenem. The plasmid carrying the gene *bla*<sub>OXA-58</sub>, described in this study, was related to the rapid spread of carbapenem resistance in *A. baumannii* in the ICU of the University Hospital of Tlemcen.

**Keywords:** Enterobacteriaceae, *A. baumannii*, Resistance to antibiotics, Epidemiology.

# **Introduction générale**

L'émergence et le développement de la résistance aux antibiotiques sont la réponse évolutive du monde bactérien à l'utilisation croissante des antibiotiques par l'homme au cours de la deuxième moitié du siècle dernier. Cette réponse avait été prévue de façon prémonitoire dès 1945 par Sir A. Fleming lui-même dans un article du New York Times (Skurnik 2006). Dès lors, des phénomènes de résistances bactériennes sont apparus de façon régulière après la mise sur le marché d'un nouvel antibiotique. Les  $\beta$ -lactamases ont été à l'origine des premières résistances acquises. Ils constituent le mécanisme le plus répandu de la résistance des bactéries aux  $\beta$ -lactamines (Cavallo et al. 2004).

Sur le front des bactéries multirésistantes aux antibiotiques, les années 90 et le début des années 2000 ont été marquées par les préoccupations autour du *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM). Les premières alertes des bacilles à Gram négatif multirésistants aux antibiotiques (BGN-MR) ont été données au début des années 2000 (Bratu et al. 2005), avec, à la fin de la décennie une évolution très préoccupante.

Les défis majeurs de la résistance sont principalement rencontrés chez les espèces d'entérobactéries, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter baumannii* qui sont parmi les causes les plus importantes d'infections nosocomiales et, pour certaines entérobactéries, également une cause importante d'infections communautaires (Rossolini et al. 2007).

Les infections nosocomiales causées par ces BGN-MR ont non seulement conduit à une augmentation de la mortalité, la morbidité, et du coût des traitements, mais aussi continuent de mettre en danger la vie des patients surtout immunodéprimés en milieu hospitalier.

L'émergence de ces bactéries résistantes aux traitements antibiotiques est le plus souvent le résultat d'un mécanisme en deux temps qui associe d'abord la sélection de bactéries commensales résistantes puis le transfert horizontal de résistance entre diverses espèces bactériennes dont certaines peuvent être pathogènes (Skurnik 2006).

Le réservoir essentiel de ces bactéries est généralement l'hôpital où se trouvent réunies toutes les conditions favorables à leur émergence et leur dissémination. Les deux facteurs essentiels au développement des résistances bactériennes sont, d'une part, l'usage abusif des antibiotiques, favorisant la sélection des bactéries les plus résistantes, et d'autre part, une insuffisance des pratiques d'hygiène en particulier le lavage des mains.

Récemment, plusieurs études ont démontré également que la résistance pouvait émerger de souches anciennes mais aussi de sources environnementales (Rolain et al. 2012).

Face à cette capacité des bactéries à échanger du matériel génétique dans des conditions de pression de sélection antibiotique et la mobilisation des gènes de résistance à partir de réservoirs préexistants qui ont grandement contribué à l'émergence et à la large diffusion des déterminants de la résistance, il est primordial de conduire des études d'épidémiologie moléculaire afin de comprendre et de contrôler la diffusion et l'augmentation de la résistance.

C'est dans cette optique que ce projet de thèse s'inscrit avec comme principaux objectifs l'étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques et l'épidémiologie moléculaire de souches cliniques et/ou environnementales de bacilles à Gram négatif multirésistants aux antibiotiques isolés au niveau du CHU de Tlemcen.

Le CHU de Tlemcen est une institution publique de 800 lits répartis en 25 services médicaux et chirurgicaux incluant un service de réanimation polyvalente. 136 000 admissions sont enregistrées chaque année.

Ces dernières années, nous avons assisté à une augmentation de la résistance aux antibiotiques essentiellement chez les bacilles à Gram négatif au niveau des différents services. Cependant, le CHU de Tlemcen ne fait pas partie du réseau national de surveillance de la résistance aux antibiotiques, et par conséquent aucune donnée n'est disponible.

Notre étude a été étalée sur une période de deux ans (Avril 2008 - Mars 2010). La collection de souches de bacilles à Gram négatif a été réalisée par nos soins avec la collaboration du Dr. Benhaddouche, Médecin Réanimateur, et le personnel aide soignant des services de réanimation et de chirurgie du CHU de Tlemcen.

Nous nous sommes proposés de présenter cette thèse en trois parties :

**Première partie :** La synthèse bibliographique a été consacrée à une revue de littérature de toutes les publications qui ont été rapportées à l'échelle nationale dans le but d'étudier la résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram-négatif particulièrement les entérobactéries, *P. aeruginosa* et *A. baumannii*. Les mécanismes de résistance aux différentes familles d'antibiotiques utilisées dans le traitement des infections à bacilles à Gram négatif sont présentés dans cette partie.

**Deuxième partie :** Il est présenté dans cette partie le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation des différents projets de cette thèse.

**Troisième partie :** Dans cette partie sont présentés les résultats et discussion des travaux réalisés sur l'épidémiologie moléculaire de la résistance aux antibiotiques chez des souches cliniques et environnementales d'entérobactéries et d'*A. baumannii* isolées au niveau des services de réanimation et de chirurgie du CHU de Tlemcen

# **Première partie**

## **Synthèse bibliographique**

L'évolution rapide de la résistance bactérienne aux antibiotiques est un phénomène actuellement préoccupant dans les pays en voie de développement où les pathogènes résistants aux antibiotiques peuvent avoir une plus forte prévalence dans certains pays africains (Bonnet 2004). L'Algérie est un pays du nord de l'Afrique où les récentes données de résistance aux antibiotiques indiquent une situation inquiétante. En effet, ces dix dernières années ont été marquées par l'émergence et la dissémination de nouveaux gènes de résistance notamment dans le nord du pays. Les défis majeurs de cette résistance ont été rencontrés principalement chez différentes espèces d'entérobactéries, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter baumannii*.

Les entérobactéries sont parmi les souches les plus fréquemment isolées chez les patients hospitalisés (Styers et al. 2006). Elles sont souvent responsables d'infections urinaires, pulmonaires, de septicémies mais également d'autres infections intra-abdominales (Paterson 2006). *Escherichia coli* est également une cause fréquente d'infections urinaires acquises en milieu communautaire (Ronald 2002). *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sont des pathogènes opportunistes, souvent responsables d'infections pulmonaires et de bactériémies sévères, notamment dans les unités de soins intensifs (Bergogne-Berezin & Towner 1996; Rossolini et al. 2007). Ces infections nosocomiales sont à l'origine de mortalité et de morbidité élevées partout dans le monde, un problème aggravé lorsque ces bactéries acquièrent des gènes de résistance aux antibiotiques.

La résistance aux  $\beta$ -lactamines chez les bacilles à Gram négatif est dominée actuellement par la production de BLSE de type CTX-M et de carbapénémases de type KPC, OXA et métalloenzymes (Chouchani et al. 2011; Gavin et al. 2006). Les gènes codant pour ces enzymes sont essentiellement localisés sur des plasmides souvent associés à d'autres gènes de résistance aux autres classes d'antibiotiques (Paterson 2006).

La résistance aux aminosides et aux quinolones est marquée par l'émergence et la dissémination des nouveaux déterminants de résistance tel les méthylases de l'ARN 16S (16S-RMTase) comme ArmA, RmtB et RmtC et les déterminants de résistance plasmidique aux quinolones (PMQR pour Plasmid-Mediated Quinolones Resistance) comme les gènes *qnr* ou encore l'enzyme AAC6'-1b-cr.

La résistance aux sulfamides est parfois liée à la présence des intégrons de classe 1 (Sul1) qui portent souvent également des cassettes de résistance à la streptomycine et au triméthoprim (Bean et al. 2005). La fréquence avec laquelle ces nouvelles enzymes ont été décrites dans la littérature reflète non seulement le rythme des découvertes et la capacité de différencier les enzymes, mais aussi leur apparition et leur rapide évolution sous la pression sélective de l'utilisation des antibiotiques (Galleni et al. 1988).

Dans cette synthèse bibliographique, nous présentons dans un premier temps, les mécanismes de résistance aux antibiotiques les plus couramment utilisés pour le traitement des infections à bacilles à Gram négatif, et dans un deuxième temps, nous faisons le point sur les mécanismes et l'épidémiologie de la résistance en Algérie. Ces informations permettront d'appréhender l'importance du risque de la circulation des bactéries multirésistantes à l'échelle nationale.

## **1. Résistance aux $\beta$ -lactamines**

Les  $\beta$ -lactamines demeurent les antibiotiques les plus utilisés dans la pratique clinique courante. Cette large utilisation est principalement liée à leur faible toxicité, à leur pouvoir bactéricide et à la diversité des molécules (Robin et al. 2012). En effet, depuis l'introduction de la pénicilline G en thérapeutique dans les années 40, un grand nombre de molécules incluant les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes a été développé (Mérens et al. 2011). Cependant, les bactéries à Gram négatif hébergent naturellement et ont acquis différents mécanismes limitant leur activité. Ces résistances sont liées à un défaut d'accumulation au contact de la cible suite à une imperméabilité ou à un

efflux de l'antibiotique, à des modifications des PLP (Protéines Liant la Pénicilline) ou à la production d'enzymes inactivatrices appelées  $\beta$ -lactamases (Robin et al. 2012). Ces enzymes sont capables d'ouvrir le cycle  $\beta$ -lactame en créant un intermédiaire acyl-enzyme instable, menant au final à la perte d'un groupement carboxyle (Bonnet 2004). La séquence en acides aminés des  $\beta$ -lactamases permet leur classification en 4 groupes (A, B, C et D) selon Ambler (Ambler 1980). Les enzymes des classes A, C et D possèdent une sérine au niveau de leur site actif tandis que les enzymes appartenant à la classe B requièrent un cation divalent, en général le zinc comme co-facteur, d'où leur nom de métallo-enzymes (Mérens et al. 2011).

La description de la première  $\beta$ -lactamase fut en 1942 chez une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la pénicilline (Kirby 1944). Cette souche avait acquis un plasmide portant un gène codant pour une  $\beta$ -lactamase dite pénicillinase, car hydrolysant et inactivant la pénicilline (Ruppé 2010). En 1963, une autre  $\beta$ -lactamase plasmidique a été décrite chez une souche d'*E.coli* (SMITH 1963). Elle fut isolée chez une patiente nommée Temoniera en Grèce d'où la nomination TEM-1 (Datta & Kontomichalou 1965). Dès lors, s'est engagée une course permanente entre résistance bactérienne d'une part et le développement de nouvelles molécules d'autre part.

L'introduction des céphalosporines de troisième génération (C3G) en pratique clinique au début des années 80 a été rapidement reliée à la sélection en cours de traitement de mutants hyperproducteurs de céphalosporinases chromosomiques chez certaines espèces (*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter Freundii*, *P. aeruginosa*) (Elhani 2012). Dès 1988, sont apparues aux États Unis et en Europe, les premières souches de *Klebsiella* (*K. pneumoniae* et *K. oxytoca*) productrices de céphalosporinases plasmidiques (Papanicolaou et al. 1990). Le phénotype de résistance observé est similaire à celui d'une céphalosporinase chromosomique hyperproduite avec, généralement, une résistance aux céphalosporines de troisième génération, aux associations avec l'acide clavulanique, une

sensibilité au mé�illinam, aux céphalosporines de quatrième génération (céfépime, cefpirome) et à l'imipénème (Philippon et al. 1989; Philippon et al. 2002). Leur production est constitutive sauf pour les gènes ACT-1, DHA-1 et CFE-1 (Nakano et al. 2004; Philippon et al. 2002). Ces enzymes ont été décrites chez différentes espèces d'entérobactéries : *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *K. oxytoca* et *Salmonella* sp. (Decre et al. 2002). CMY-2 est le type d'enzyme AmpC le plus répandu et présentant la plus large distribution géographique. Il a été signalé en Algérie (Iabadene et al. 2009c; Koeck et al. 1997), mais aussi en Espagne, en France, en Allemagne, en Grèce, en Inde, au Pakistan, à Taiwan, au Royaume-Uni et aux États-Unis (Bauernfeind et al. 1998; Navarro et al. 2001; Philippon et al. 2002). Les AmpC plasmidiques CMY-12 et DHA-1 ont également été identifiées en Algérie (Decre et al. 2002; Iabadene et al. 2009c; Nedjai et al. 2012) (Tableau 1 ; Figure 1).

Les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE), découvertes initialement chez les souches de *K. pneumoniae* en Allemagne et en France, sont des enzymes de classe A plasmidiques qui présentent un fort potentiel de diffusion à travers le monde (Robin et al. 2012; Ruppé 2010). Ces enzymes confèrent une résistance à la quasi-totalité des  $\beta$ -lactamines, excepté les céphamycines (céfoxitine, céfotétan) et les carbapénèmes, et elles sont inhibées par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases comme l'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam (Bonnet 2004). Les gènes codant pour ces enzymes sont principalement situés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons), expliquant la rapidité de leur diffusion (Grall et al. 2011).

Jusqu'à la fin des années 90, la majorité des BLSE détectées étaient des dérivés de TEM-1/2 et de SHV-1 après évolution de ces enzymes anciennes par mutation (s) ponctuelle (s) (Gniadkowski 2008). Ces enzymes diffusaient majoritairement au sein de clones hospitaliers de *K. pneumoniae* et d'*Enterobacter* spp (Elhani 2012). A l'heure actuelle, plus de 350 enzymes de type TEM et SHV ont été décrites en se basant sur les différentes combinaisons

de changements d'acides aminés (<http://www.lahey.org/Studies/>). Plusieurs variants ont été identifiés en Algérie dont TEM-188 et SHV-110 (Berrazeg et al. 2013; Drissi et al. 2008; Kermas et al. 2012; Ramdani-Bouguessa et al. 2011) (Tableau 1 ; Figure 1).

Depuis le début des années 2000, l'émergence et la dissémination des BLSE CTX-M sont observées au niveau mondial. Ces enzymes ont communément une activité préférentielle sur le céfotaxime et la ceftriaxone par rapport à la ceftazidime (Bonnet 2004). Elles trouvent leur origine dans le chromosome des espèces du genre *Kluyvera* (Bonnet 2004; Humeniuk et al. 2002) et sont essentiellement isolées chez les souches d'*E. coli* aussi bien en milieu hospitalier que communautaire (Canton & Coque 2006). Plus de 130 variants CTX-M ont été décrits et répartis en 6 groupes phylogénétiques : le groupe CTX-M-1, M-2, M-8, M-9, M-25 et M-45 en fonction des similitudes de leurs séquences en acides aminés (Naas et al. 2007; Rossolini et al. 2008). L'analyse de l'environnement génétique de ces gènes a permis de découvrir différents éléments génétiques dont la séquence d'insertion *ISEcpI*, qui joue un rôle primordial dans leur expression et leur mobilisation (Poirel et al. 2003a; Ruppé 2010) . Les tailles des différents *spacer* (séquences entre les sites ATG des gènes *bla*<sub>CTX-M</sub> et les séquences promotrices -10 d'*ISEcpI*-like) ont été identifiées (Ma et al. 2011). En Algérie, une étude a rapporté que la taille de ces séquences était identique pour les gènes *bla*<sub>CTX-M-3</sub> et *bla*<sub>CTX-M-15</sub> et suggèrent que le CTX-M-3 a évolué sous des conditions de pression de sélection antibiotique particulières à ce pays vers le CTX-M-15 (Messai et al. 2008). Plusieurs autres études ont rapporté la présence de ces enzymes aussi bien en milieu hospitalier que communautaire dans le nord de l'Algérie (Gharout-Sait et al. 2012; Iabadene et al. 2008; Iabadene et al. 2009a; Meradi et al. 2011; Messai et al. 2008; Naas et al. 2005; Ramdani-Bouguessa et al. 2006; Touati et al. 2012a; Touati et al. 2006; Touati et al. 2007; Touati et al. 2008a; Touati et al. 2008b; Touati et al. 2008c; Touati et al. 2010) (Tableau 1 ; Figure 1).

D'autres BLSE, caractérisées par un haut niveau de résistance à la ceftazidime et parfois à l'aztréonam, ont une distribution moins large que celle du groupe CTX-M (Bradford 2001; Philippon & Arlet 2006). Elles sont apparues dans les années 90 principalement chez des souches de *P. aeruginosa* et d'*A. baumannii* (Naas et al. 2008; Weldhagen et al. 2003). Dans ce groupe, ont été identifiées en Algérie, les enzymes VEB-1 chez des souches de *Providencia stuartii* et d'*E. cloacae* (Aubert et al. 2005) et PER-1 chez des souches de *Proteus vulgaris* (Iabadene et al. 2009b) (Tableau 1 ; Figure 1).

Ces dernières années, la prescription des carbapénèmes est devenue de plus en plus fréquente dans le cas d'infection documentée à germe producteur de BLSE, mais également en traitement probabiliste en cas d'infections nosocomiales sévères (Grall et al. 2011). Cependant, comme pour toutes les  $\beta$ -lactamines mises sur le marché, des souches résistantes sont apparues. Cette résistance résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des  $\beta$ -lactamases (Nordmann & Carrer 2010). Le premier mécanisme associe la production d'une céphalosporinase chromosomique, plasmidique, ou une BLSE à une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des porines (Doumith et al. 2009; Lee et al. 2007; Martinez-Martinez 2008). Le second est lié à l'expression de carbapénémases,  $\beta$ -lactamases à forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes (Poirel et al. 2007; Queenan & Bush 2007). Ces enzymes sont les plus importantes d'un point de vue clinique car elles compromettent l'efficacité de presque toutes les  $\beta$ -lactamines (Nordmann & Carrer 2010). Les carbapénémases identifiées chez les bacilles à Gram négatif appartiennent aux 3 classes connues de  $\beta$ -lactamases (classes A, B et D de la classification de Ambler). Décrites au milieu des années 80, les carbapénémases de classe A ont tout d'abord été rapportées dans des espèces d'entérobactéries nosocomiales comme *E. cloacae*, *Serratia marcescens* ou *Klebsiella* spp. de façon sporadique ou lors de petites épidémies (Naas et al. 1994; Walther-Rasmussen & Hoiby 2007). Les KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) sont les

enzymes de classe A les plus fréquentes et les plus menaçantes, du fait de leur pouvoir de dissémination important (Nordmann et al. 2009). Initialement identifiées aux États-Unis (Yigit et al. 2001), elles ont été décrites comme endémiques dans plusieurs régions du monde, notamment aux États-Unis, en Amérique du sud, en Israël, en Chine et en Grèce (Cuzon et al. 2010b). Les carbapénémases de classe B, essentiellement de type IMP ou VIM, sont également très répandues (Poirel et al. 2007; Queenan & Bush 2007; Walsh 2008). Elles ont été identifiées notamment au Japon, en Italie, en Espagne et en Grèce (Nordmann & Carrer 2010). En Algérie, les variants VIM-2 et VIM-19 ont été identifiés chez des souches de *P. aeruginosa* et d'entérobactéries respectivement (Robin et al. 2010; Touati et al. 2013). Plus récemment, une nouvelle carbapénémase, NDM-1 (New Delhi métallo- $\beta$ -lactamases) a été identifiée (Yong et al. 2009). Cette enzyme aurait déjà une diffusion internationale importante, identifiée au moins en Inde, au Pakistan et en Grande Bretagne chez *K. pneumoniae* et *E. coli* en milieu hospitalier et communautaire (Nordmann & Carrer 2010). Elle a également été identifiée chez des souches d'*A. baumannii* en Inde, en Chine, en Allemagne, en Egypte, à Oman et en Israël (Espinal et al. 2011; Kaase et al. 2011; Karthikeyan et al. 2010).

Les premières NDM-1 en Algérie ont été identifiées chez des souches d'*A. baumannii* isolées chez des patients algériens transférés en France (Boulangier et al. 2012) et en Belgique (Bogaerts et al. 2011). Une autre étude a récemment rapporté la présence de ce gène chez des souches d'*A. baumannii* à l'ouest de l'Algérie (Mesli et al. 2013) (Tableau 1 ; Figure 1).

La résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* est également souvent liée à la production de carbapénémase de classe D. La première oxacillinase OXA-23 (ARI-1) a été observée dès 1985, publiée en 1993 et a diffusé dans le monde entier avant même l'utilisation des carbapénèmes (Paton et al. 1993). Depuis, 4 groupes d'oxacillinases ont été identifiés chez *A. baumannii* (OXA-23-like, OXA-24-like, OXA-58-like et OXA-51-like) (Heritier et al. 2005).

Dans les groupes OXA-23 et OXA-58-like, différentes séquences d'insertion présentes à l'extrémité 5' et/ou 3' (*ISAbal*, *ISAbas* ou *IS18*) régulent l'expression des enzymes (Decré 2012). En Algérie, plusieurs études ont rapporté la présence des gènes oxacillinases (OXA-23, OXA-24, OXA-58 et OXA-72) dans le nord du pays (Bakour et al. 2012; Kempf et al. 2012; Mugnier et al. 2010; Touati et al. 2012b) (Tableau 1 ; Figure 1). OXA-23 est la carbapénémase la plus répandue et semble être endémique en Algérie (Bakour et al. 2012).

La résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii*, liée à la présence de céphalosporinase et d'OXA-51 surexprimée avec l'*ISAbal* en amont n'a pas été décrite en Algérie.

Chez les entérobactéries, la résistance aux carbapénèmes par production d'oxacillinase à activité carbapénémase a également été rapportée. L'OXA-48 a été identifiée pour la première fois en Turquie chez des souches de *K. pneumoniae* (Poirel et al. 2005). Elle est souvent associée à d'autres  $\beta$ -lactamases, en particulier des BLSEs, ce qui contribue à la multirésistance des souches (Carrer et al. 2010; Cuzon et al. 2010a; Gulmez et al. 2008). Les conséquences cliniques d'OXA-48 ont été bien établies avec sa diffusion chez *K. pneumoniae* en Turquie et dans de nombreux pays du pourtour méditerranéen (Liban, Tunisie, Israël, Egypte, France) (Aktas et al. 2008; Carrer et al. 2010; Cuzon et al. 2010a; Gulmez et al. 2008; Kilic et al. 2011). OXA-48 n'a pas été décrite en Algérie mais Poirel et al., suggèrent que cette enzyme est endémique dans ce pays, suite aux observations positives effectuées chez les patients transférés de l'Algérie (Poirel et al. 2012b).

**Tableau 1.  $\beta$ -lactamases identifiées en Algérie**

Références	Année	Journal	Espèces concernées	Enzymes décrites	Lieu
<b>Koeck et al.</b>	1997	FEMS Microbiol Lett	<i>Salmonella senftenberg</i>	CMY-2	NP
<b>Decre et al.</b>	2002	J. Antimicrob Chemother	<i>Proteus mirabilis</i>	CMY-12	Constantine
<b>Aubert et al.</b>	2005	Antimicrob Agents Chemother	<i>Providencia stuartii</i>	VEB-1	Alger
<b>Naas et al.</b>	2005	J. Antimicrob Chemother	<i>Salmonella enterica</i>	CTX-M-3	Constantine
<b>Touati et al.</b>	2006	Int. J. Antimicrob Agents	<i>Enterobacteriaceae</i>	CTX-M-3 ; CTX-M-15	Béjaia
<b>Ramdani-Bouguessa et al.</b>	2006	J. Clin Microbiol	<i>E. coli</i>	CTX-M-3 ; CTX-M-15	Alger
<b>Touati et al.</b>	2007	Microb. Drug Resist.	<i>Klebsiella pneumoniae ; E. coli</i>	CTX-M-15	NP
<b>Touati et al.</b>	2008	Pediatr. Infect. Dis. J.	<i>S. enterica</i>	CTX-M-15	NP
<b>Touati et al.</b>	2008	J. Hosp. Infect.	<i>Enterobacter cloacae ; K. pneumoniae</i>	CTX-M-15	NP
<b>Touati et al.</b>	2008	Diagn. Microbiol. Infect. Dis.	<i>E. cloacae</i>	CTX-M-15	Béjaia
<b>Drissi et al.</b>	2008	Med. Mal Infect.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	TEM-110	Tlemcen
<b>Iabadene et al.</b>	2008	J. Antimicrob. Chemother.	<i>E. cloacae</i>	CTX-M-3 ; CTX-M-15 ; SHV-12 ; VEB-1	Alger ; Tizi-Ouzou ; Tlemcen
<b>Messai et al.</b>	2008	Pathol. Biol.	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 ; CTX-M-15	Alger
<b>Iabadene et al.</b>	2009	Med. Mal Infect.	<i>S. enterica</i>	CTX-M-14	Tizi-Ouzou
<b>Iabadene et al.</b>	2009	Int. J. Antimicrob Agents	<i>Enterobacteriaceae</i>	CTX-M-15 ; SHV-12 ; CMY-2 ; DHA-1	Alger
<b>Naas et al.</b>	2009	J. Antimicrob. Chemother	<i>S. enterica</i>	CTX-M-3	Constantine
<b>Meradi et al.</b>	2011	Pathol. Biol.	<i>Enterobacteriaceae</i>	CTX-M-28	Annaba
<b>Iabadene et al.</b>	2009	Antimicrob Agents Chemother	<i>Proteus vulgaris ; P. stuartii</i>	PER-1	Alger
<b>Mugnier et al.</b>	2010	Emerg. Infect. Dis.	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	NP

Références	Année	Journal	Espèces concernées	Enzymes décrites	Lieu
<b>Robin et al.</b>	2010	Antimicrob. Agents Chemother	<i>Enterobacteriaceae</i>	VIM-19	Alger
<b>Touati et al.</b>	2010	J. Hosp. Infect.	<i>E. cloacae</i> ; <i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-15	NP
<b>Drissi et al.</b>	2010	Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.	<i>Acinetobacter baumannii</i>	OXA-58	Tlemcen
<b>Ramdani-Bouguessa et al.</b>	2011	J. Med. Microbiol.	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 ; CTX-M-15 ; SHV-98 ; SHV-99 ; SHV-100	Alger
<b>Naas et al.</b>	2011	I. J. Antimicrob. Agents.	<i>S. enterica</i>	CTX-M-15	Constantine
<b>Bouzidi et al.</b>	2011	J. Antimicrob. Chemother.	<i>Salmonella</i> non-Typhi	CTX-M-15	Annaba
<b>Bogaerts et al.</b>	2011	J. Antimicrob. Chemother	<i>A. baumannii</i>	NDM-1	NP
<b>Nedjai et al.</b>	2012	Med. Mal. Infect.	<i>Klebsiella</i> sp. ; <i>Enterobacter</i> sp. ; <i>Serratia</i> sp.	CTX-M-3 ; CTX-M-15 ; SHV-12 ; DHA-1	Annaba
<b>Kempf et al.</b>	2012	PLoS. One.	<i>A. baumannii</i>	OXA-23 ; OXA-24	NP
<b>Touati et al.</b>	2012	Int. J. Antimicrob. Agents	<i>A. baumannii</i>	OXA-23 ; OXA-58	Annaba
<b>Boulanger et al.</b>	2012	Antimicrob. Agents Chemother	<i>A. baumannii</i>	NDM-1	Oran
<b>Touati et al.</b>	2012	Int. Res. J. Microbiol.	<i>Enterobacteriaceae</i>	CTX-M-15	Alger
<b>Gharout-Sait et al.</b>	2012	African. J. Microbiol. Res.	<i>E. coli</i> ; <i>K. pneumoniae</i> ; <i>E. cloacae</i>	CTX-M-3 ; CTX-M-15	Béjaia
<b>Kermas et al.</b>	2012	Foodborne. Pathog. Dis.	<i>S. enterica</i>	CTX-M-15 ; TEM-4 ; TEM-48 ; TEM-188	Alger
<b>Bakour et al.</b>	2012	J. Med Microbiol	<i>A. baumannii</i>	OXA-23 ; OXA-72	Sétif ;Tizi-Ouzou
<b>Touati et al.</b>	2013	Antimicrob. Agents Chemother	<i>P. aeruginosa</i>	VIM-2	Annaba
<b>Berrazeg et al.</b>	2013	J. Med. Microbiol.	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-15,SHV-12,SHV-28,SHV-1	NP
<b>Mesli et al.</b>	2013	Int. J. Infect. Dis.	<i>A. baumannii</i>	OXA-23; OXA-24; NDM-1	NP

NP: non précisé

## 2. Résistance aux aminosides

Les aminosides continuent à jouer un rôle important dans le traitement des infections sévères dues aux pathogènes à Gram négatif souvent en association avec les  $\beta$ -lactamines à large spectre (Doi & Arakawa 2007). Ces antibiotiques agissent en se liant au site aminoacyl (site A) de l'ARN16S de la petite sous-unité ribosomale 30S des procaryotes et interfèrent avec la synthèse des protéines (Magnet & Blanchard 2005). La liste des aminosides utilisés en thérapeutique humaine est restreinte puisque limitée à la gentamicine, la tobramycine, l'amikacine et la nétilmicine. Leur utilisation a contribué à la sélection de souches résistantes par différents mécanismes incluant : les enzymes-modifiant les aminosides (AME), la diminution de la perméabilité membranaire, l'altération structurale de la cible ribosomale et l'expulsion de l'antibiotique par système d'efflux (Courvalin 2008).

Les (AME) sont le plus important mécanisme de résistance aux aminosides (Ramirez & Tolmasky 2010). Ils sont représentés par 3 familles d'enzymes : les aminoglycosides acétyltransférases (AAC), les aminoglycosides nucléotidyltransférases (ANT) et les aminoglycosides phosphotransférases (APH) (Shaw et al. 1993). Ces enzymes ont été par la suite divisées en classes sur la base du site de modification (indiqué en parenthèse) et en sous-classes en fonction du phénotype de résistance aux aminosides (indiqué en chiffre romain). Les enzymes de même classe et sous-classe mais codées par des gènes différents sont désignées par une lettre minuscule à la fin (Ramirez & Tolmasky 2010). Dans un autre système de nomenclature, les gènes sont désignés *aac*, *aad* et *aph* suivis par une lettre majuscule qui identifie le site de modification. Un chiffre est ajouté à la fin pour identifier les différents gènes (Novick et al. 1976). Les gènes codant les AME sont généralement trouvés en tant que gènes cassettes dans des intégrons sur des plasmides ou des transposons, souvent associés aux autres gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines et aux quinolones (Ramirez & Tolmasky 2010).

Parmi les AME, l'AAC(6')-Ib est probablement le plus important acétyltransférase sur le plan clinique. Il est responsable de la résistance à l'amikacine chez des bactéries à Gram négatif appartenant au genre *Acinetobacter* et aux familles *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonaceae* et *vibrionaceae*. Certains de ces variants montrent un plus large spectre de résistance incluant la gentamicine (AAC(6')-Ib<sub>11</sub>) (Casin et al. 2003) ou une sensibilité réduite aux quinolones (ACC(6')-Ib-cr) (Robicsek et al. 2006a). La sous-classe AAC(3)-II, caractérisée par la résistance à la gentamicine, la nétilmicine et la tobramycine, inclue 3 enzymes : AAC(3)-IIa et AAC(3)-IIb qui ont été précédemment publiés en tant que AAC(3)-Va, AAC(3)-Vb et AAC(3)-IIc (Ramirez & Tolmasky 2010). Alors que AAC(3)-IIa a été trouvée dans une large variété de genres, AAC(3)-IIb et AAC(3)-IIc ont été trouvées chez *E.coli*, *Alcaligenes faecalis* et *S. marscescens* ou *E.coli* et *P. aeruginosa* respectivement (Dubois et al. 2006; Oteo et al. 2006). Dans une étude récente sur des souches cliniques d'entérobactéries isolées dans un hôpital tunisien, les auteurs ont suggéré que l'enzyme identifiée était la AAC(3)-IIb dans tous les genres testés (Dahmen et al. 2010a).

En Algérie, les gènes *aac(3)-II*, *aac(6')-Ib* ont été identifiés chez des souches cliniques d'entérobactéries sur des plasmides associés aux gènes CTX-M-3, CTX-M-14, CTX-M-15 et CTX-M-28 et les gènes *qnrB* (Gharout-Sait et al. 2012; Iabadene et al. 2009a; Meradi et al. 2011). D'autres gènes de résistance aux aminosides ont été identifiés en Algérie. Les gènes *aadA2*, *aadB* et *aac4* ont été identifiés comme gènes cassettes au sein d'intégron de classe 1 chez des souches cliniques d'entérobactéries et de *P. aeruginosa* (Touati et al. 2013). Dans une autre étude, les gènes *aac(3)-Ia*, *aadA*, *ant(2'')-I*, *aph(3')*, *aac(6')-Ib* ont été identifiés chez des souches d' *A. baumannii* associés aux gènes OXA-23, OXA-24 et NDM-1 (Mesli et al. 2013) (Tableau 2 ; Figure 1).

Plus récemment, un autre mécanisme de résistance aux aminosides a été décrit. Il s'agit de l'auto- protection de la cible ribosomale par la méthylation d'un nucléotide spécifique dans le

site A de l'ARNr 16S, ce qui empêche la liaison de l'aminoside à la sous-unité 30S du ribosome chez les microorganismes producteurs de ces antibiotiques (*Streptomyces spp.* et *Micromonospora spp.*) (Doi & Arakawa 2007). Le gène codant pour ce mécanisme, nommé *armA*, a été par la suite retrouvé respectivement chez des souches cliniques de *K. pneumoniae* et de *P. aeruginosa* en France et au Japon en 2003 (Galimand et al. 2003; Yokoyama et al. 2003). Ces souches présentaient de hauts niveaux de résistance à l'ensemble des aminosides utilisés en clinique tel l'amikacine, la tobramycine et la gentamicine (Doi & Arakawa 2007). A l'heure actuelle, huit autres déterminants de méthylases de l'ARNr-16S (RMTases-16S) ont été identifiés (Bercot et al. 2011; Galimand et al. 2012). Ces gènes sont généralement portés par des éléments génétiques mobiles retrouvés intégrés dans des plasmides transférables appartenant à divers groupes d'incompatibilité (Wachino & Arakawa 2012). Ils ont été rapportés chez des souches d'entérobactéries produisant des BLSEs, essentiellement les CTX-M-15 (Arpin et al. 2009; Poirel et al. 2011b), CTX-M-9 et CTX-M-14 (Deng et al. 2011; Yan et al. 2004) et des carbapénémases tel NDM-1 (Livermore et al. 2011; Poirel et al. 2011b) et KPC (Jiang et al. 2010; Zacharczuk et al. 2011). Ils ont également été identifiés chez des souches d'*A. baumannii* produisant l'OXA-23 et de *P. aeruginosa* produisant la SPM-1 (Castanheira et al. 2008; Doi et al. 2007; Doi & Arakawa 2007). En Algérie, le gène *armA* a été identifié pour la première fois chez des souches d'entérobactéries isolées chez un patient algérien transféré en Belgique (Bogaerts et al. 2007). Il a été par la suite identifié chez des souches cliniques de *Salmonella enterica* à Constantine sur des plasmides conjugatifs portant aussi les gènes *bla*<sub>TEM-1</sub> et CTX-M-3 ou CTX-M-15 (Naas et al. 2009; Naas et al. 2011) de même que chez des souches cliniques de *Salmonella* non-Typhi à Annaba associé aux gènes CTX-M-15 et CMY-2 (Bouzidi et al. 2011) (Tableau 2 ; Figure 1).

### 3. Résistance aux quinolones

Les quinolones sont des antibiotiques de synthèse dont les cibles d'action sont les topoisomérases II (ADN gyrase) et topoisomérases IV (Gellert et al. 1977; Sugino et al. 1977). Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité et leur date de mise sur le marché (Ball 2000). Leur large utilisation en médecine humaine et vétérinaire a conduit à l'émergence et à l'augmentation de la prévalence de la résistance acquise chez toutes les espèces bactériennes à travers le monde (Cattoir 2012).

La résistance chromosomique aux quinolones chez les entérobactéries résulte essentiellement d'accumulation de mutations dans l'ADN gyrase (Gyr A) puis dans la topoisomérase IV (Drlica & Zhao 1997). Les mutations apparaissent quasi-exclusivement dans de courtes régions conservées, situées entre les acides aminés 67 et 106, appelées QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) (Hopkins et al. 2005; Jacoby 2005; Ruiz 2003). De plus, la résistance chromosomique aux quinolones peut être associée à la diminution de la perméabilité membranaire et/ou à la surexpression des systèmes d'efflux (Hirai et al. 1986; Mitsuyama et al. 1992; Nikaido 1996; Putman et al. 2000).

Récemment, trois mécanismes de résistance plasmidique aux quinolones ont été décrits. Le premier déterminant PMQR (Plasmid Mediated Quinolones Resistance), correspondant à la protéine QnrA1, a été identifié en 1998 (Martinez-Martinez et al. 1998). Le gène codant a été identifié sur un large plasmide conjugatif isolé à partir d'une souche de *K. pneumoniae* résistante à la ciprofloxacine (Martinez-Martinez et al. 1998). QnrA1 est une protéine de 218 acides aminés appartenant à la famille des protéines à motifs pentapeptidiques répétés. Elle entre en compétition avec les quinolones pour l'accessibilité de l'ADN gyrase (Tran & Jacoby 2002) et peut être aussi la topoisomérase IV (Tran et al. 2005). Quatre autres déterminants Qnr-like (*qnrB*, *qnrS*, *qnrC* et *qnrD*) ainsi que différents variants des protéines QnrA (n=7), QnrB (n=42) et QnrS (n=5) ont été identifiés chez les entérobactéries (Cavaco et al. 2009;

Hata et al. 2005; Jacoby et al. 2006; Wang et al. 2009). Ces gènes sont généralement trouvés en tant que gènes cassettes dans des intégrons de classe 1 sur des plasmides qui souvent hébergent d'autres gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines, aminosides, chloramphénicol, tétracyclines, sulfamides, triméthoprimine et rifampicine (Poirel et al. 2012a). L'ensemble des déterminants Qnr a été identifié dans le monde dans différentes espèces d'entérobactéries, essentiellement *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *E. coli* et *Salmonella enterica*, aussi bien en milieu hospitalier que communautaire (Rodriguez-Martinez et al. 2011). En Algérie, les gènes *qnr* (-A, -B, -S) ont été détectés chez des souches hospitalières d'entérobactéries produisant des BLSE (CTX-M, SHV-12 et VEB-1) (Iabadene et al. 2008; Meradi et al. 2011; Touati et al. 2008b). Plus récemment, les gènes *qnr* ont été isolés à Bejaia chez des souches d'*E.coli* produisant des BLSE de type CTX-M et responsables d'infections urinaires en milieu communautaire (Gharout-Sait et al. 2012) (Tableau 2 ; Figure 1).

Le deuxième déterminant PMQR identifié est le *aac(6')-Ib-cr*. Ce déterminant a été découvert pour la première fois en 2006 chez une souche d'*E.coli qnrA*-positive en Chine (Robicsek et al. 2006a). Il se distingue de son progéniteur, le *aac(6')-Ib*, par le remplacement de deux acides aminés, Trp102Arg et Asp179Tyr et confère une résistance de bas niveau à la ciprofloxacine et à la norfloxacine (Robicsek et al. 2006a). En général, *aac(6')-Ib-cr* est identifié comme gène cassette au sein d'intégron de classe 1 (Mérens & Servonet 2010). Il est souvent associé à d'autres gènes de résistance aux quinolones tels les différents variant *qnr*, les BLSEs (CTX-M-1, CTX-M-14, CTX-M-15, CTX-M-24), les céphalosporinases plasmidiques (DHA-1) et les carbapénémases (KPC-2) (Strahilevitz et al. 2009). Il a été essentiellement identifié chez des souches cliniques d'*E.coli* et de *K. pneumoniae* (Poirel et al. 2012a).

En Algérie, il a été détecté pour la première en 2009 fois chez une souche d'*E. cloacae* (Meradi et al. 2011) puis chez des souches d'entérobactéries en milieu communautaire (Gharout-Sait et al. 2012) (Tableau 2 ; Figure 1).

Enfin, le troisième déterminant PMQR est le gène *qepA* qui code pour une pompe d'efflux actif (QepA1 et QepA2) responsable d'une diminution de la sensibilité aux fluoroquinolones hydrophiles (norfloxacin, ciprofloxacine) (Perichon et al. 2007; Yamane et al. 2007). Il a été décrit chez des souches d'*E.coli* en France, au Japon et en Belgique (Perichon et al. 2007), souvent associé aux déterminants *rmtB*, *qnrS* et *aac(6')-Ib-cr* (Liu et al. 2008). Il n'a pas encore été rapporté en Algérie.

**Tableau 2. Déterminants de résistance aux aminosides et aux quinolones identifiés en Algérie**

Références	Année	Journal	Espèces concernées	Enzymes décrites	Lieu
<b>Bogaerts et al.</b>	2007	J. Antimicrob. Chemother.	<i>Enterobacteriaceae</i>	ArmA	NP
<b>Touati et al.</b>	2008	Diagn. Microbiol. Infect. Dis.	<i>Enterobacter cloacae</i>	QnrB	Béjaia
<b>Iabadene et al.</b>	2008	J. Antimicrob. Chemother.	<i>E. cloacae</i>	QnrB1 ; QnrB4 ; QnrS1	Alger ; Tizi-Ouzou ; Tlemcen
<b>Iabadene et al.</b>	2009	Med. Mal Infect.	<i>Salmonella enterica</i>	AAC(3')-II	Tizi-Ouzou
<b>Meradi et al.</b>	2011	Pathol. Biol.	<i>Enterobacteriaceae</i>	QnrB1 ; AAC(6')-Ib ; AAC(6')-Ib-cr	Annaba
<b>Naas et al.</b>	2009	J. Antimicrob. Chemother.	<i>S. enterica</i>	ArmA	Constantine
<b>Naas et al.</b>	2011	Int. J. Antimicrob. Agents	<i>S. enterica</i>	ArmA	Constantine
<b>Bouzidi et al.</b>	2011	J. Antimicrob. Chemother.	<i>Salmonella non-Typhi</i>	ArmA	Annaba
<b>Gharout-Sait et al.</b>	2012	African. J. Microbiol. Res.	<i>Escherichia coli</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>E. cloacae</i>	QnrB1 ; QnrS1 ; AAC(6')-Ib-cr	Béjaia
<b>Touati et al.</b>	2013	Antimicrob. Agents Chemother	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>aadB</i> ; <i>aacA4</i>	NP
<b>Mesli et al.</b>	2013	Int. J. Infect. Dis.	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>aac(3)-I</i> ; <i>aadA</i> ; <i>ant(2'')-I</i> ; <i>aph(3')</i> ; <i>aac(6')-Ib</i>	NP

NP : non précisé

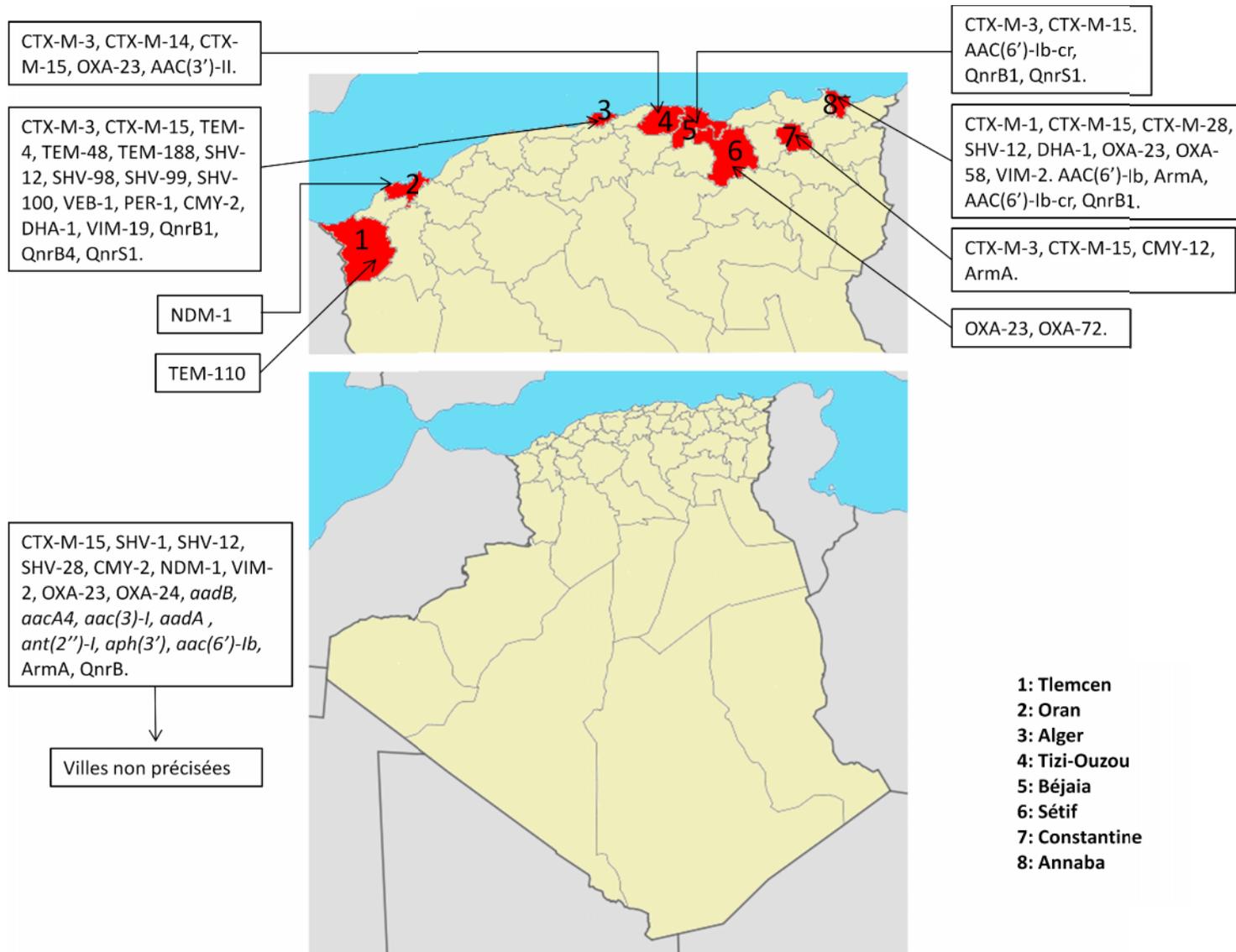
#### 4. Résistance aux sulfamides

Les sulfamides (SULs) et le triméthoprime (TMP) sont des antibiotiques de synthèse utilisés pendant plusieurs décennies en tant qu'agents antibactériens efficaces et bon marché en médecine humaine et vétérinaire (Skold 2001). Ils ont été utilisés en association (co-trimoxazole) à partir de 1968 en raison de leur effet synergique *in vitro* (Bushby & Hitchings 1968). En 1979, le triméthoprime seul devient disponible pour le traitement des infections des voies urinaires et en 1995, l'utilisation du co-trimoxazole a été limitée à cause des effets secondaires des sulfamides (Bean et al. 2009). Ces derniers inhibent la biosynthèse du folate par compétition avec le substrat naturel, l'acide para-aminobenzoïque (PAB), pour la liaison à la dihydroptéroate synthétase (DHPS) (Perreten & Boerlin 2003), enzyme qui catalyse la formation de l'acide dihydroptéroïque (DHF) à partir de PAB et de ptéridine (Skold 2001). Le triméthoprime agit à une seconde étape de la synthèse de l'acide folique. Par analogie structurale au DHF, il agit comme inhibiteur compétitif pour la dihydrofolate réductase (DHFR) (Huovinen et al. 1995) qui catalyse la transformation du DHF en acide tétrahydrofolique (THF) ou acide folinique, nécessaire à la synthèse des acides nucléiques (Huovinen 2001).

La résistance aux sulfamides est apparue très peu de temps après leur utilisation en clinique. Chez les bacilles à Gram négatif, la résistance peut être due soit à des mutations dans le gène chromosomique de la DHPS (*folP*) qui résultent en une diminution de l'affinité de la DHPS pour les sulfamides, soit à l'acquisition de gènes alternatifs (*sul*) qui codent des DHPS avec une affinité réduite aux sulfamides (Perreten & Boerlin 2003). A l'inverse de plusieurs autres gènes de résistance aux autres classes d'antibiotiques, seulement 3 gènes de résistance acquis aux sulfamides ont été décrits (Perreten & Boerlin 2003). Le premier gène, *sul1*, a été observé uniquement comme faisant partie de la région conservée 3' (3'CS) des intégrons de classe 1 sur de larges plasmides conjugatifs (Grape et al. 2005; Hammerum et al. 2006) tandis que *sul2*

n'a jamais été trouvé comme faisant partie d'un intégron (Grape et al. 2005). Auparavant considéré comme étant situé juste sur de petits plasmides non-conjugatifs, *sul2* a été récemment trouvé dans un grand nombre de plasmides conjugatifs (Radstrom et al. 1991) et a été associé à la prévalence de la résistance à la streptomycine (Hammerum et al. 2006). Il est généralement plus répandu que *sul1* chez les bactéries à Gram négatif (Blahna et al. 2006; Infante et al. 2005). Cependant, dans une étude tunisienne, la distribution des gènes *sul* montre la prévalence du gène *sul1* (Dahmen et al. 2010b). Le gène *sul3* a été décrit à l'origine chez des souches d'*E.coli* isolées chez le porc en Suisse en 2003 (Wu et al. 2010) puis chez le bétail et les volailles de même que chez les humains dans plusieurs pays (Antunes et al. 2007).

La résistance au triméthoprim est due à plusieurs mécanismes dont la modification qualitative ou quantitative de la DHFR suite à des mutations dans le gène *folA*, la diminution de la perméabilité membranaire et/ou la surexpression des systèmes d'efflux et l'acquisition des gènes exogènes de résistance (*dfr*) (Dahmen et al. 2010b). Plus de 30 gènes de résistance au triméthoprim (*dfr*) transférables ont été caractérisés (Skold 2010). Ces gènes (*dfr*) sont codés principalement chez les entérobactéries par des cassettes au sein d'intégrons, eux mêmes portés par des transposons sur des plasmides conjugatifs (Brolund et al. 2010; Huovinen et al. 1995). La prévalence des allèles *dfr* est différente d'un pays à un autre. En Tunisie et en République Centrale Africaine, ce sont les allèles *dfrA1* suivies de *dfrA17* qui sont les plus fréquentes (Dahmen et al. 2010b; Frank et al. 2007). En Europe, c'est le *dfrA1* qui est le plus communément trouvé (Blahna et al. 2006; Heikkila et al. 1991; Kern et al. 2002; Towner et al. 1994). Des études réalisées en Corée et en Australie ont montré la prévalence des allèles *dfrA12* et *dfrA17* (White et al. 2001; Yu et al. 2003; Yu et al. 2004). Les gènes de résistance aux sulfamides et au triméthoprim n'ont pas encore été rapportés en Algérie.



**Figure 1. Carte de l'Algérie montrant la localisation géographique des différentes enzymes décrites**

## **Deuxième partie**

### **Matériel et méthodes**

## **1. Lieu de l'étude**

L'hôpital Universitaire de Tlemcen est une institution publique comprenant 800 lits répartis en 25 services médicaux et chirurgicaux incluant un service de réanimation. 136 000 admissions sont enregistrées chaque année.

## **2. Prélèvements**

Durant la période allant du mois d'Avril 2008 au mois de Mars 2010, 380 prélèvements ont été réalisés à des fins diagnostiques ou de dépistage au niveau des services de réanimation et de chirurgie. La plupart des patients en réanimation, étant intubés, les prélèvements broncho-pulmonaires ont été réalisés par aspiration trachéo-bronchique. Les autres prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage rectale et/ou à partir de plaies. Les prélèvements à partir des surfaces ou matériel médical ont également été réalisés.

## **3. Identification**

Les méthodes microbiologiques standards pour l'identification des bactéries à Gram négatifs ont été la coloration de Gram, la croissance sur milieu gélosé Mc Conkey, galerie API 20E et 20NE.

## **4. Sensibilité aux antibiotiques**

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion de disque selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA SFM 2008). Les antibiotiques utilisés (Bio-Rad) étaient : amoxicilline (AMX), amoxicilline + acide clavulanique (AMC), ticarcilline (TIC), ticarcilline + acide clavulanique (TCC), pipéracilline (PIP), pipéracilline + tazobactam (TZP), céfotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), céfépime (FEP), aztréonam (ATM), imipénème (IPM), gentamicine (GM), tobramycine (TM), amikacine (AN), ciprofloxacine (CIP) et triméthoprim + sulfaméthoxazole (SXT).

Les concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées par la méthode de dilution en milieu gélosé Mueller Hinton avec un ensemencement par spot de  $10^4$  UFC/ml pour les antibiotiques suivants : ticarcilline (Glaxo SmithKline), ticarcilline/acide clavulanique (Glaxo SmithKline), pipéracilline (Dakota Pharm), pipéracilline/tazobactam (Wyeth Pharmaceuticals), céfotaxime (Panpharma), ceftazidime (Glaxo SmithKline), céfépime (Bristol-Meyers Squibb), aztréonam (Sanofi-Synthelabo), imipénème (MSD), gentamicine (Panpharma), tobramycine (Merck), amikacine (Merck) et ciprofloxacine (Bayer Pharma). Les souches de référence *E. coli* 25922 et *P. aeruginosa* 27853 ont été utilisées pour le contrôle interne.

## **5. Détection phénotypique des mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines**

### **5.1. Test de détection de BLSE**

La recherche des BLSEs a été effectuée par le test de synergie entre un disque d'AMC et des disques de céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G) (ceftazidime, céfotaxime) et 4<sup>ème</sup> génération (C4G) (céfépime) en absence et présence d'une concentration de cloxacilline (Bristol-Meyers Squibb) de 250 $\mu$ g/ml (Philippon & Arlet 2006). Le test de l'accroissement de la zone d'inhibition autour des disques de C3G et de C4G additionnés d'acide clavulanique a également été utilisé (Drieux et al. 2008).

### **5.2. Test de détection de carbapénémases**

La détection d'une activité carbapénémase a été réalisée par l'utilisation du test de Hodge qui consiste à mettre en évidence l'hydrolyse de l'imipénème par la souche à tester à l'aide d'une bactérie indicatrice (*E. coli* 25922). L'étape suivante consistait à utiliser la propriété d'inhibition des métallo-enzymes par l'EDTA (Grall et al. 2011). Une souche de *P. aeruginosa* productrice de métallo- $\beta$ -lactamase VIM-1 a été utilisée comme témoin positif.

## **6. Extraction de l'ADN bactérien total**

L'extraction de l'ADN a été réalisée par la méthode d'ébullition. Les suspensions bactériennes ont été préparées à partir de colonies bactériennes sur milieu Mueller-Hinton dans 250µl d'eau pure et soumises à un chauffage de 96°C pendant 10 mn puis à une congélation à -20°C pendant 8 mn. L'ADN total bactérien a été obtenu après élimination des débris cellulaires par centrifugation à 8000 t/mn pendant 1 mn.

## **7. Typage moléculaire des souches d'entérobactéries**

### **7.1. ERIC et rep-PCR**

Le typage moléculaire des souches d'entérobactéries a été effectué par les méthodes d'amplification génique. L'ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Consensus-PCR) a été réalisée en utilisant l'amorce ERIC2 et la rep-PCR (Repetitive Extragenic Palindromic) en utilisant les amorces REP-1R et REP-2T (Eckert et al. 2006).

### **7.2. Phylogénie d'*E.coli***

La détermination du groupe phylogénétique d'*E.coli* a été réalisée par réaction d'amplification génique de type PCR multiplex. Les souches appartenant au groupe phylogénétique B2-3 ont fait l'objet d'une recherche du groupe clonale O25-ST131 (Clermont et al. 2009).

### **7.3. MLST (*K. pneumoniae*)**

Le typage par MLST (Multi Locus Sequence Typing) a été réalisé en utilisant les 7 gènes de ménage (*rpoB*, *gapA*, *infB*, *phoE*, *mdh*, *pgi* et *tonB*) pour les clones prédominants de *K. pneumoniae* (CKp1 et CKp5) (Diancourt et al. 2005).

Les résultats ont été analysés avec la base de données *K. pneumoniae* MLST disponible sur internet ([www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/Kpneumoniae.html](http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/Kpneumoniae.html)).

## 8. Typage moléculaire des souches d'*A. baumannii*

Le génotypage des souches d'*A. baumannii* a été effectué par électrophorèse en champ pulsé (ECP-PFGE). L'ADN a été extrait des isolats et soumis à une digestion enzymatique par 40U de l'enzyme *ApaI* (Carbonne et al. 2005). L'électrophorèse a été réalisée sur gel d'agarose 1% dans un tampon TBE 0.5 M pendant 22 heures à 14°C. Le logiciel Fingerprinting II (Biorad®) a été utilisé pour calculer les coefficients de corrélation de Dice et pour générer un dendrogramme par UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Mathematical Averages).

## 9. Identification des gènes de résistance aux antibiotiques

Les gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines (*bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>TEM-1</sub>, *bla*<sub>OXA-1</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>VEB-1</sub>, *bla*<sub>PER-1</sub>, *bla*<sub>GES-1</sub>), aux aminosides (*aac(3')-II*), aux quinolones (*aac6'-Ib-cr*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*), aux sulfamides (*sul1*, *sul2*), et l'intégron de classe 1 ont été identifiés par réaction d'amplification génique de type PCR simplex ou multiplex (Carbonne et al. 2005; Kassis-Chikhani et al. 2004; Nagano et al. 2004; Park et al. 2006; Poirel et al. 2003b; Robicsek et al. 2006b). La recherche des séquences *spacer* (séquence intermédiaire entre l'ISE*cp1* et les gènes *bla*<sub>CTX-M</sub>) a été réalisée en utilisant une combinaison d'amorces spécifiques (Eckert et al. 2006). Pour toutes les réactions de PCR, des témoins positifs et négatifs ont été utilisés.

## 10. Séquençage

Les produits de PCR ont été soumis à une digestion avec 2 $\mu$ l d'ExoSap-IT et incubés 15 mn à 37°C. L'arrêt de la digestion a été effectué par transfert des tubes dans un bain marie sec à 80°C pendant 15 mn.

Les séquences nucléotidiques et les séquences protéiques déduites sont analysées par le programme du centre national de l'information en biotechnologie (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

### **11. Identification des gènes de virulence chez *K. pneumoniae***

La recherche des gènes de virulence (*entB*, *allS*, *ybtS*, *mrKD*, *ycfM* et *iroN*) chez les clones prédominants de *K. pneumoniae* (CKp1 et CKp5) a été réalisée par PCR multiplex (Brisse et al. 2009; Decre et al. 2011).

### **12. Conjugaison**

La conjugaison a été réalisée en utilisant une souche réceptrice *E. coli* J53 résistante à la rifampicine. Les transconjugants ont été sélectionnés sur gélose Mueller-Hinton contenant 250 µg/ml de rifampicine et 2.5 µg/ml de céfotaxime (Eckert et al. 2006). Les transconjugants obtenus ont fait l'objet du test de synergie, de contrôle de sensibilité par méthode de diffusion et de réaction de PCR pour les gènes codant les BLSE.

### **13. Analyse des plasmides**

L'extraction des plasmides a été effectuée par la méthode de la lyse alcaline (Kado & Liu 1981). La taille des plasmides obtenus a été estimée par comparaison avec les plasmides d'*E. coli* V517. La recherche du groupe d'incompatibilité des plasmides a été réalisée par PCR en utilisant des couples d'amorces pour les souches donatrices et les transconjugants respectifs (Carattoli et al. 2005).

## **Troisième partie**

### **Résultats et discussion**

## **Premier chapitre : Entérobactéries**

Les bactéries multirésistantes (BMR) représentent un problème de santé publique majoré par une utilisation abusive et non contrôlée des antibiotiques. En Algérie, les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (EBLSE) sont les BMR majoritaires. Ces EBLSE sont souvent à l'origine d'infections potentiellement sévères aussi bien en milieu hospitalier que communautaire.

Le problème de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries en Algérie est aggravé par l'émergence des nouveaux déterminants de résistance tels les carbapénémases, les RMTases et les PMQR. Les souches les produisant sont généralement multirésistantes et peuvent souvent être sources d'impasses thérapeutiques.

Nous évoquons dans ce chapitre les résultats et discussion des travaux d'épidémiologie moléculaire réalisés afin d'investiguer les supports génétiques de la résistance aux antibiotiques ( $\beta$ -lactamines, aminosides, quinolones et sulfamides-triméthoprime) à partir d'une collection de 71 souches cliniques d'entérobactéries (*E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae*) productrices de BLSE.

### **1. Résultats**

#### **1.1. Répartition des souches identifiées**

Cent quatre vingt une (181) souches d'entérobactéries ont été isolées à partir de 380 prélèvements réalisés au niveau des services de réanimation et de chirurgie du CHU de Tlemcen.

Les souches d'entérobactéries identifiées étaient réparties comme suit : 70 *Escherichia coli*, 79 *Klebsiella pneumoniae*, 4 *Klebsiella oxytoca*, 19 *Enterobacter cloacae*, 2 *Enterobacter aerogenes*, 4 *Citrobacter freundii*, 1 *Morganella morganii* et 2 *Proteus mirabilis*.

## 1.2. Sensibilité aux antibiotiques

Soixante et onze (71) souches cliniques non redondantes d'entérobactéries (17 *Escherichia coli*, 50 *Klebsiella pneumoniae* et 4 *Enterobacter cloacae*) ont été définies sur la base de leur phénotype de résistance comme producteurs de BLSE (Figure 2) et ont été sélectionnées pour cette étude.



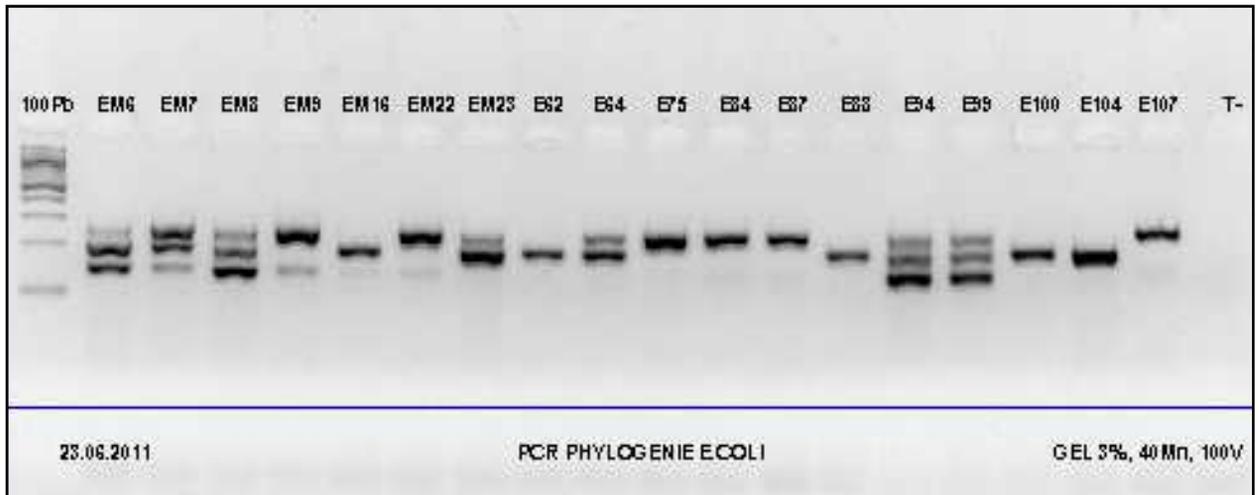
Figure 2. Image de synergie chez une souche de *K. pneumoniae*

L'ensemble de ces souches présentait de hauts niveaux de résistance à la ticarcilline (CMI > 512 µg/ml) et la pipéracilline (CMI = 512 µg/ml). Les CMI du céfotaxime variaient de (64 à > 512 µg/ml), ceftazidime de (8 à 128 µg/ml), gentamicine de (32 à > 512 µg/ml) et ceux de la tobramycine (8 à > 512 µg/ml). Toutes les souches étaient sensibles à l'imipénème (CMI 0.125 à 0.25 µg/ml). Pour les autres classes d'antibiotiques, 64 souches étaient résistantes à la ciprofloxacine (8 à 64 µg/ml) et 57 au triméthoprime-sulfaméthoxazole (diamètre = 7).

## 1.3. Typage des souches d'entérobactéries

Le typage des souches a révélé la présence de 11 clones différents parmi les 17 souches d'*E. coli*, 12 clones parmi les 50 souches de *K. pneumoniae* et 2 clones parmi les 4 souches d'*E. cloacae* étudiées.

Chez *E. coli*, chaque clone contenait 1 à 4 souches. L'analyse phylogénétique a montré que 4 clones appartenait au groupe phylogénétique A1, 3 au groupe phylogénétique B2 (1 B2-2 et 2 B2-3) et 4 au groupe phylogénétique D1. Seul 1 clone d'*E.coli* B2-3 appartenait à la séquence type ST131 (Figure 3).



**Figure 3. Résultat de la PCR phylogénie *E.coli***

En ce qui concerne *K. pneumoniae*, 2 clones majeurs ont été identifiés et désignés CKp1 (n=11, 22%) et CKp5 (n=25, 50%). Les souches du clone CKp1 ont été isolées uniquement en 2008 dans le service de réanimation, alors que celles du clone CKp5 étaient prédominantes en 2009 et ont été isolées aussi bien dans le service de réanimation que dans les services de chirurgie.

Les clones CKp1 et CKp5 ont été identifiés par MLST. Ils correspondaient respectivement aux séquences types ST931 (clone CKp1) et ST15 (clone CKp5).

#### **1.4. Identification des gènes de virulence chez les clones prédominants de *K. pneumoniae***

Les souches appartenant aux 2 clones prédominants de *K. pneumoniae* (CKp1 et CKp5) exprimaient les facteurs de virulence fréquemment retrouvés chez cette espèce bactérienne à savoir les adhésines (*ycfM* et *mrkD*) et les sidérophores (*entB*). Cependant, seules les souches

du clone CKp5 exprimaient également yersiniabactin, un sidérophore codé par yersinia haute-pathogénicité island (Figure 4, 5).

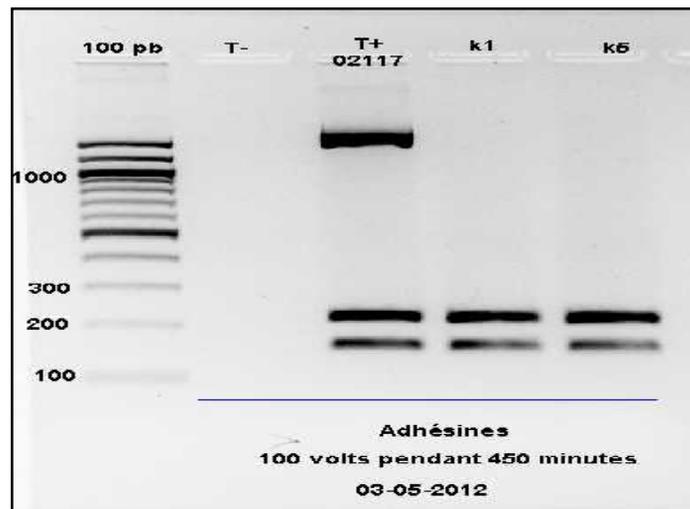


Figure 4. Résultat de la Multiplex virulence (*mrKD*, *ycfM*, *IroN*) de *K. pneumoniae*

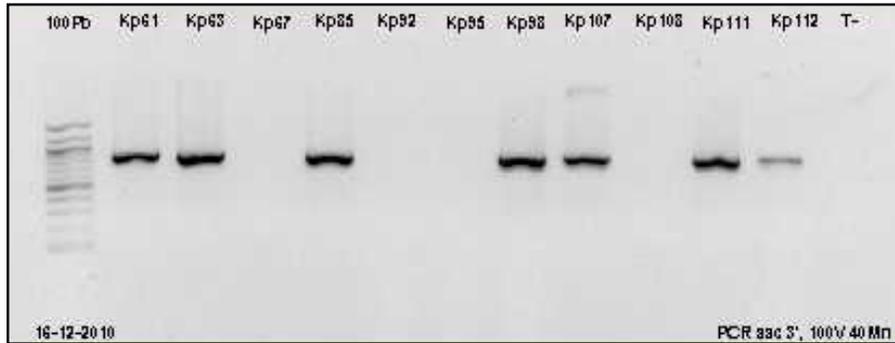


Figure 5. Résultat de la Multiplex virulence (*entB*, *allS*, *ybtS*) de *K. pneumoniae*

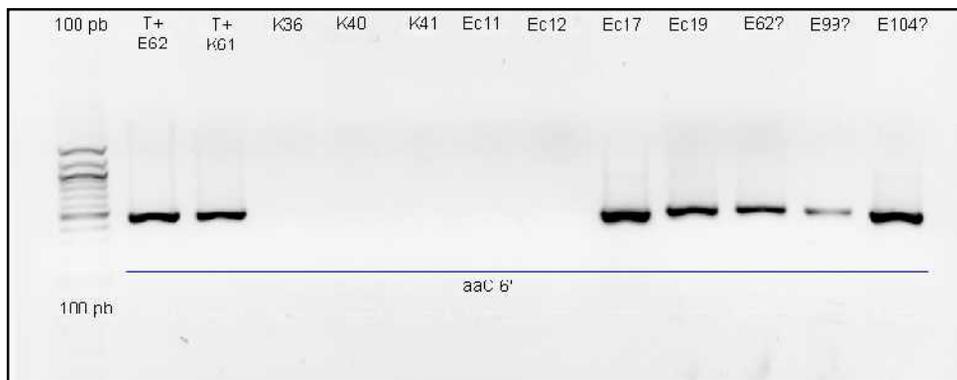
### 1.5. Identification des gènes de résistance aux antibiotiques

Les gènes *bla*<sub>CTX-M</sub> ont été détectés chez tous les isolats et leurs transconjugants (tableau 3). Le séquençage a permis d'identifier le gène *bla*<sub>CTX-M-15</sub> chez 69 (97%) souches et le gène *bla*<sub>CTX-M-3</sub> chez 2 (3%) souches. Les gènes *bla*<sub>TEM-1</sub> et *bla*<sub>OXA-1</sub> ont été identifiés chez 44 isolats. Parmi les 69 souches CTX-M-15 positives, seules 39 (55%) exprimaient les 2 gènes. Aucune souche n'exprimait la carbapénémase OXA-48 (Tableau 3).

Les gènes de résistance aux aminosides (*aac(3')-II*) (Figure 6) et aminosides-quinolones (*aac(6')-Ib-cr*) (Figure 7) ont été identifiés chez 43 (60%) souches. Leur production simultanée a été rapportée chez 41 (58%) souches.

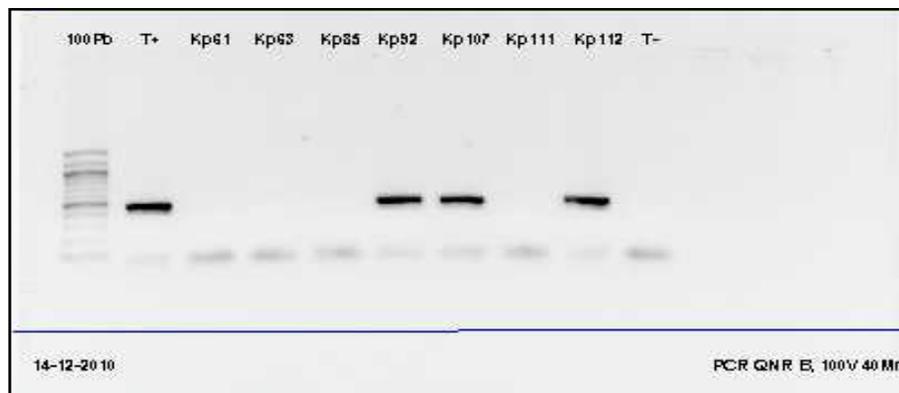


**Figure 6. Résultat de la PCR *aac(3')-II***



**Figure 7. Résultat de la PCR *aac(6')-Ib-cr***

Le gène *qnrB2* (Figure 8) a été identifié chez 7 (10%) souches qui exprimaient également le gène *aac(6')-Ib-cr*.



**Figure 8. Résultat de la PCR *qnrB***

En ce qui concerne la résistance aux sulfamides, 50 (70%) souches contenaient le gène *sul2*, 22 (31%) souches le gène *sul1* et 15 (21%) souches contenaient les deux gènes *sul1* et *sul2* (Figure 9). Les souches *sul1* positives (n=22) étaient aussi positives pour l'intégron de classe I. L'identification des gènes cassettes par séquençage a montré que 2 souches contenaient la combinaison de gènes *dfrA1-aadA2*, 17 souches contenaient la combinaison *dfrA12-aadA2* et 3 souches contenaient le gène *aadA2* seul.

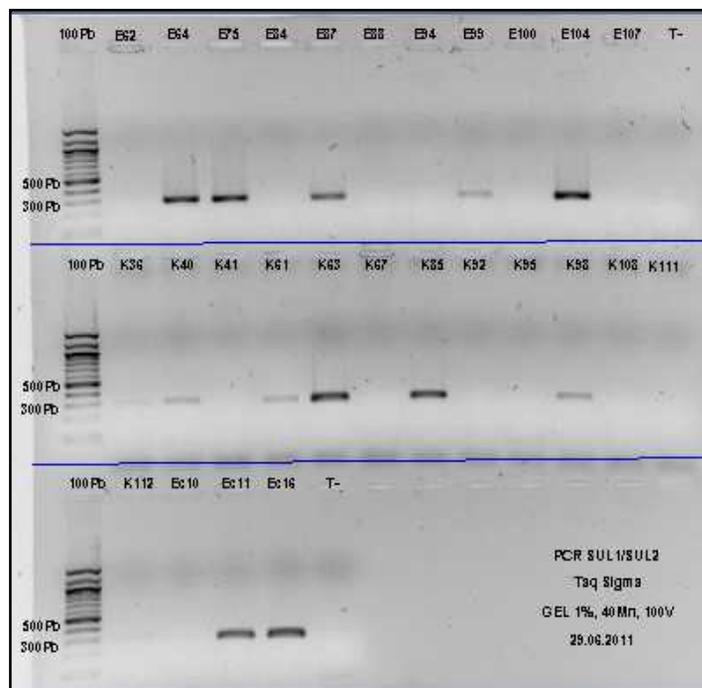


Figure 9. Résultat de la multiplex *sul1/sul2*

### 1.6. Conjugaison

L'étude du transfert des plasmides (conjugaison) a permis d'obtenir 18 transconjugants (Tc). Seize étaient positives pour le gène *bla*<sub>CTX-M-15</sub> et 2 étaient positives pour le gène *bla*<sub>CTX-M-3</sub>. Les résistances co-transférées étaient celles aux aminosides (GM/ GM-TM) chez 9 transconjugants, à la ciprofloxacine (n Tc=5), et au triméthoprime-sulfaméthoxazole (n Tc=6).

### 1.7. Identification des séquences *spacer* et des groupes d'incompatibilité des plasmides

La séquence *spacer* (séquence intermédiaire entre la séquence d'insertion *ISEcpI* et les gènes *bla<sub>CTX-M</sub>*) était caractérisée par les séquences W et V+W chez 15 et 10 souches respectivement (Figure 10).

Toutes les souches avec la séquence V+W étaient positives pour le groupe d'incompatibilité des plasmides IncL/M (Figure 11). Les autres souches n'ont pas été testées pour les groupes d'incompatibilité des plasmides.

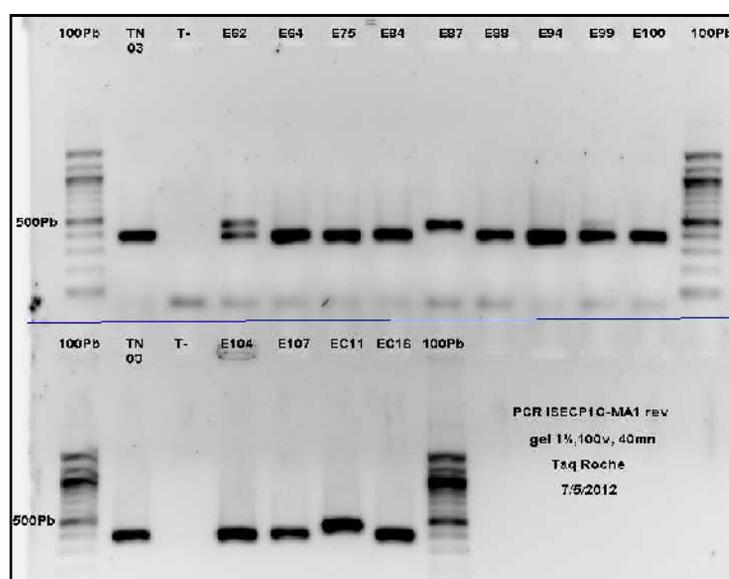


Figure 10. Résultat de la PCR de la séquence *spacer*

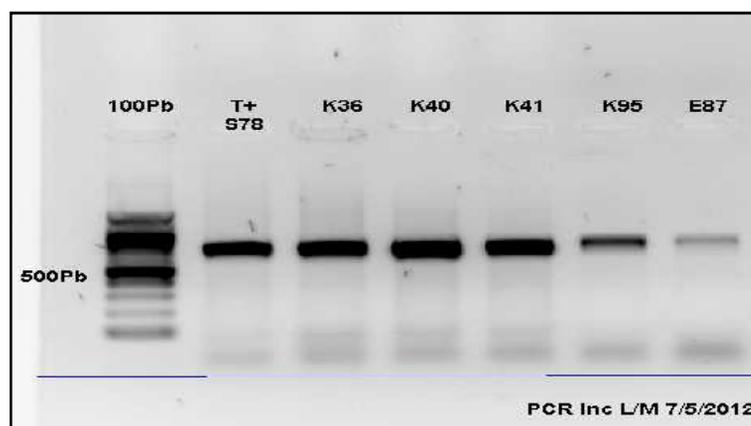


Figure 11. Résultat de la PCR IncL/M

**Tableau 3. Distribution des gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines et des déterminants de résistance associés chez les souches d'entérobactéries isolées à l'Hôpital de Tlemcen (Avril 2008 – Mars 2010)**

Clone (n souches)	CTX-M allèle	Date d'isolement	Service	Gènes de résistances associés						Gènes cassettes de l'intégron de classe 1				
				<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-1</sub>	<i>aac</i> (3')-II	<i>aac</i> (6')-Ib-cr	<i>qnrB2</i>	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>	<i>dfrA1</i>	<i>dfrA12</i>	<i>aadA2</i>	
E1 (4)	15	A1	10/08-12/08	Réa-Chirurgie	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
E2 (1)	15	B2-2	11/08	Réa	+	-	+	-	-	-	+			
E3 (2)	15	D1	01/09-02/09	Réa	+	+	-	-	-	-	+			
E4 (1)	15	D1	02/09	Chirurgie	-	-	+	-	-	-	-			
E5 (1)	15	D1	03/09	Réa	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
E6 (2)	15	A1	03/09	Réa	-	-	-	-	-	-	-			
E7 (2)	15	B2-3	04/09-07/09	Réa-Chirurgie	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+
E8 (1)	15	B2-3	04/09	Chirurgie	+	+	+	+	-	-	+			
E9 (1)	3	A1	04/09	Réa	-	-	-	-	-	-	-			
E10 (1)	15	A1	07/09	Chirurgie	-	+	+	+	-	-	+			
E11 (1)	15	D1	02/10	Chirurgie	+	-	-	-	-	-	-			
K1 (11)	15		04/08-05/08	Réa	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
K2 (1)	15		04/08	Réa	-	-	-	-	-	-	+			
K3 (1)	15		04/08	Réa	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
K4 (3)	15		10/08-11/08	Réa	+	+	+	+	-	-	+			
K5 (25)	15		10/08-03/10	Réa-Chirurgie	+	+	+	+	-	-	+			
K6 (1)	15		10/08	Chirurgie	-	-	-	-	-	-	-			
K7 (2)	15		03/09-04/09	Chirurgie	+	+	-	+	+	-	-			
K8 (1)	15		03/09	Chirurgie	-	-	-	-	-	-	-			

Clone (n souches)	CTX-M allèle	Date d'isolement	Service	Gènes de résistances associés							Gènes cassettes de l'intégron de classe 1		
				<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-1</sub>	<i>aac(3')-II</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>qnrB2</i>	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>	<i>dfrA1</i>	<i>dfrA12</i>	<i>aadA2</i>
K9 (1)	15	02/10	Réa	+	+	+	+	+	-	-			
K10 (1)	15	02/10	Réa	-	-	-	-	-	-	-			
K11 (2)	15	02/10-03/10	Réa	+	+	+	+	-	-	-			
K12 (1)	15	03/10	Réa	-	-	+	+	+	-	-			
Ec1 (1)	3	04/08	Réa	+	-	-	-	-	-	+			
Ec2 (3)	15	11/08- 01/09	Réa	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+

**Réa : réanimation**

**E : *Escherichia coli*, K : *Klebsiella pneumoniae*, Ec: *Enterobacter cloacae***

## 2. Discussion

A l'hôpital de Tlemcen, 71 souches d'entérobactéries (17 *E. coli*, 50 *K. pneumoniae* et 4 *E. cloacae*) productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi ont été collectées entre Avril 2008 et Mars 2010. Soixante neuf souches exprimaient le gène *bla*<sub>CTX-M-15</sub> et 2 le gène *bla*<sub>CTX-M-3</sub>. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par de précédentes études en Algérie (Ramdani-Bouguessa et al. 2006; Touati et al. 2006). Etonnamment, OXA-48 n'a pas été trouvée dans notre collection de souches. Ce résultat suggère que durant la période (Avril 2008 – Mars 2010) le gène *bla*<sub>OXA-48</sub> n'était pas endémique dans la ville de Tlemcen (Algérie), bien qu'elle soit proche de la ville de « Oujda » (Maroc) où OXA-48 a été rapporté comme endémique.

L'analyse génotypique par rep-PCR des souches d'*E.coli* a montré une grande diversité : 11 différents génotypes parmi les 17 souches étudiées. La détermination des groupes phylogénétiques a montré que 4 clones appartenaient au groupe phylogénétique A1, 3 au groupe phylogénétique B2 (1 B2-2 et 2 B2-3) et 4 au groupe phylogénétique D1. Seul 1 clone d'*E.coli* B2-3 appartenait à la séquence type ST131. Ce clone, dont le potentiel de virulence est élevé, a été signalé partout dans le monde (Clermont et al. 2009; Nicolas-Chanoine et al. 2008).

Pour les souches de *K. pneumoniae*, l'analyse par rep-PCR a montré 2 majeures populations clonales produisant le gène *bla*<sub>CTX-M-15</sub> : CKp1 (ST931, n=11) et CKp5 (ST15, n=25). A l'inverse de CKp5 (ST15), CKp1 (ST931) a été trouvé seulement en 2008 au niveau du service de réanimation. Cette constatation suggère que CKp5 a remplacé CKp1 dans le service de réanimation et a disséminé dans les autres services (chirurgie) du CHU de Tlemcen. Ces suggestions sont renforcées par le fait que *K. pneumoniae* (ST15) produisant la BLSE CTX-M-15 est un clone épidémique qui a été répandu en Europe (Damjanova et al. 2008) et au Maroc (Poirel et al. 2011a). Le clone CKp5 était aussi le seul à contenir yersiniabactin (*ybts*), gène de virulence qui a été décrit chez les souches de *K. pneumoniae*

produisant la carbapénémase KPC et appartenant à la séquence type ST258 (Bachman et al. 2011). Ceci peut expliquer sa grande virulence (nombre de patients) et donc sa persistance durant la période d'étude. D'autres investigations sont nécessaires pour établir la relation entre le gène de virulence yersiniabactin et la dissémination de souches multirésistantes de *K. pneumoniae*.

La multirésistance des souches d'entérobactéries a souvent été rapportée pour les souches produisant une BLSE notamment le gène *bla*<sub>CTX-M</sub> (Boyd et al. 2004; Eckert et al. 2006; Lavollay et al. 2006). La plupart de nos souches d'*E.coli* (y compris ST131), contenait également les gènes *bla*<sub>TEM-1</sub> et/ou *bla*<sub>OXA-1</sub> dont la présence a déjà été décrite dans les souches productrices de CTX-M-15 dans le monde. De plus, les gènes de résistance aux aminosides (*aac(3')-II*) et aminosides-quinolones (*aac(6')-Ib-cr*) étaient présents chez 8 (50%) et 6 (35%) souches respectivement.

Dans le cas de *K. pneumoniae*, les souches du clone CKp1 étaient résistantes aux sulfamides et au triméthoprimine alors que celles du clone CKp5 exprimaient une résistance aux aminosides, à la ciprofloxacine et aux sulfamides et possédaient également les gènes *bla*<sub>TEM-1</sub> et *bla*<sub>OXA-1</sub>. Cette multirésistance peut aussi expliquer en partie la persistance du clone CKp5 (ST15) durant la période d'étude.

Le haut niveau de résistance à la ciprofloxacine (CMI=64µg/ml) retrouvé chez nos souches (à l'exception de 7 *E. coli*) rend le traitement très difficile. Il a été admis que les déterminants plasmidiques de résistance aux fluoroquinolones pouvaient encourager la sélection de mutants *gyrA* exprimant de hauts niveaux de résistance (Hawkey 2008). A l'inverse des autres études rapportées en Algérie (Ibadene et al. 2008; Meradi et al. 2011; Touati et al. 2008b), seule l'allèle *qnrB2* a été identifié dans cette étude. Ce dernier a été moins fréquent que le gène *aac(6')-Ib-cr* et a été absent chez les souches d'*E.coli*. La plus large dissémination du gène *aac(6')-Ib-cr* comparée à celle des déterminants Qnr a déjà été rapportée (Luo et al. 2011).

Quatre *E. coli* (23%), 16 *K. pneumoniae* (32%) et 1 *E. cloacae* étaient résistantes à la ciprofloxacine sans la production de déterminant plasmidique de résistance aux quinolones. Ce résultat et les hauts niveaux de résistance à la ciprofloxacine, observés chez les souches contenant le gène *aac(6')-Ib-cr*, suggèrent que le principal mécanisme de résistance aux fluoroquinolones dans nos souches est probablement dû à des mutations ponctuelles dans les gènes codant pour les gyrases ou les topoisomérases.

En ce qui concerne la résistance aux sulfamides, le gène *sul1* était moins fréquent que le gène *sul2* chez nos souches. Ce résultat est en accord avec d'autres études qui ont rapporté que le gène *sul2* était plus répandu parmi les souches cliniques (Kern et al. 2002). Cependant, il diffère de celle de la distribution des allèles de résistance au sulfaméthoxazole observé en Tunisie (Dahmen et al. 2010b). Parmi les souches étudiées, 7 *E. coli*, 12 *K. pneumoniae* et 3 *E. cloacae* hébergeaient l'intégron de classe 1 qui contenait les gènes cassettes *aadA2* et *dfr* (A1 et a12) responsables de la résistance à la streptomycine et au triméthoprime respectivement. Le gène *aadA2* seul ou en association (*dfrA1-aadA2*/*dfrA12-aadA2*) a déjà été rapporté dans différents espèces bactériennes (Antunes et al. 2006; Gassama et al. 2010; Guerra et al. 2003). Le gène *dfrA12* était le plus fréquent dans cette étude. Cette constatation n'est pas en accord avec de précédentes observations chez des isolats d'entérobactéries en Afrique ((Dahmen et al. 2010b).

La région intermédiaire entre la séquence d'insertion *ISEcp1* et *bla<sub>CTX-M</sub>* chez 9 des 25 souches représentatives était caractérisée par la séquence V+W. Chez 7 d'entre elles, le gène *bla<sub>CTX-M-15</sub>* était positivement mobilisé par un plasmide du groupe d'incompatibilité IncL/M. Ce résultat est en accord avec les conclusions de Messai et al (Messai et al. 2008) qui a montré que l'enzyme CTX-M-15 en Algérie dérivait du CTX-M-3 sous un contexte clinique. Cependant, chez les 15 autres souches représentatives, la région intermédiaire était caractérisée par la séquence W entre la séquence d'insertion *ISEcp1* et *bla<sub>CTX-M-15</sub>* et par V+W

entre la séquence d'insertion *ISEcp1* et *bla<sub>CTX-M-3</sub>*. Cette organisation a été décrite par Eckert et al (Eckert et al. 2006). Dans la dernière souche représentative (*E.coli* E9), la région intermédiaire entre la séquence d'insertion *ISEcp1* et *bla<sub>CTX-M-3</sub>* était caractérisée par la séquence W. Ce résultat suggère qu'*E.coli* E9 peut être un révertant.

Les résultats de cette étude montrent qu'il existe deux types de population de CTX-M-15. L'une qui dérive du CTX-M-3 dans un contexte clinique algérien et l'autre qui est universellement trouvée. La dissémination du gène *bla<sub>CTX-15</sub>* au niveau du CHU de Tlemcen est liée à la circulation des clones épidémiques de *K. pneumoniae* ST15 et ST931 et au transfert de plasmides entre souches non reliées. L'absence de la carbapénémase OXA-48 durant la période d'étude renforce l'idée que l'épidémiologie de la résistance aux  $\beta$ -lactamines en Algérie est différente de celle observée dans les pays voisins tel le Maroc et la Tunisie.

## **Deuxième chapitre : *Acinetobacter baumannii***

*A. baumannii* est un pathogène opportuniste qui a su s'adapter au cours du temps pour devenir une bactérie redoutable par ses capacités de persistance en milieu difficile, ses caractéristiques épidémiogènes et sa multirésistance aux antibiotiques. En matière de résistance elle a su utiliser une variété de mécanismes associant mutations, acquisition de séquences d'insertion ou de gènes de résistance à partir d'espèces plus ou moins proches sous la forme de plasmides, transposons ou cassettes d'intégrons (Decré 2012).

L'utilisation croissante des antibiotiques au niveau du CHU de Tlemcen a contribué à l'émergence et la diffusion de souches résistantes à un grand nombre d'antibiotiques dont les  $\beta$ -lactamines, les aminosides et les fluoroquinolones.

Dans ce chapitre, nous présentons les résultats et discussion portant sur la recherche de gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines et la clonalité des souches d'*A. baumannii* isolées au niveau des services de réanimation et chirurgie du CHU de Tlemcen.

### **1. Résultats**

#### **1.1. Sensibilité aux $\beta$ -lactamines**

Cent soixante (160) souches de bacilles à Gram négatif non fermentaires (90 *A. baumannii* et 70 *P. aeruginosa*) ont été isolées à partir de 380 prélèvements réalisés au niveau des services de réanimation et de chirurgie du CHU de Tlemcen.

Soixante dix sept (77) souches non redondantes d'*A. baumannii* ont été sélectionnées pour cette étude. Quinze (15) souches étaient issues de prélèvements de surfaces.

Toutes les souches ont présenté de hauts niveaux de résistance à la ticarcilline ( $>512\mu\text{g/ml}$ ), à la ticarcilline + acide clavulanique (128- $\rightarrow$ 512 $\mu\text{g/ml}$ ), à la pipéracilline (256- $\rightarrow$ 512 $\mu\text{g/ml}$ ), à la pipéracilline + tazobactam (64-256 $\mu\text{g/ml}$ ), à la ceftazidime (64- $\rightarrow$ 512 $\mu\text{g/ml}$ ) et au céfépime (64-128 $\mu\text{g/ml}$ ).

Vingt huit (28) souches étaient sensibles à l'imipénème (2µg/ml) et ont été désignées IPM S (Figure 12), et 49 étaient résistantes à l'imipénème (16-64 µg/ml) et ont été désignées IPM R (Figure 13).

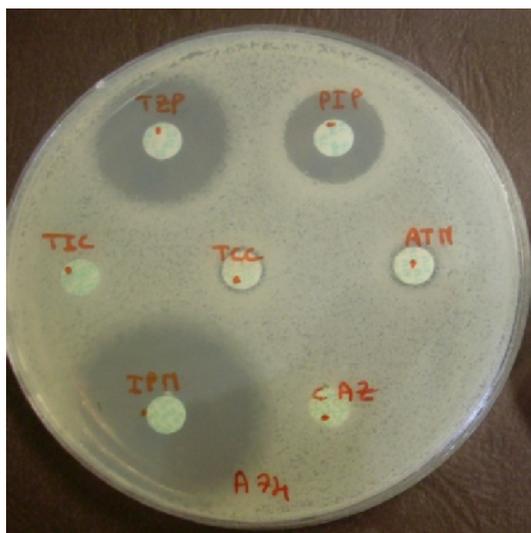


Figure 12. Sensibilité aux  $\beta$ -actamines chez les souches d'*A. baumannii* catégorisées IPM S

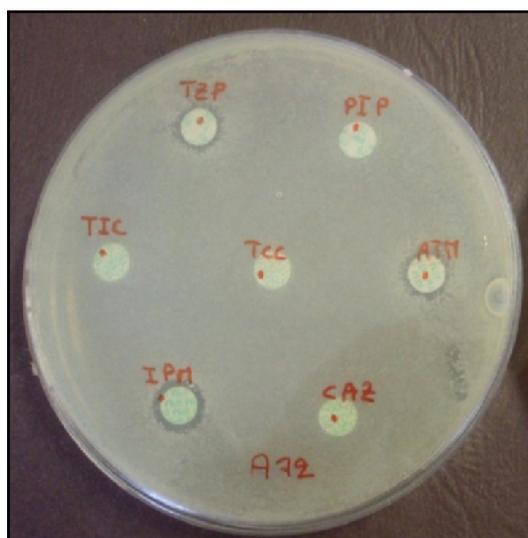


Figure 13. Sensibilité aux  $\beta$ -actamines chez les souches d'*A. baumannii* catégorisées IPM R

## 1.2. Détection des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines

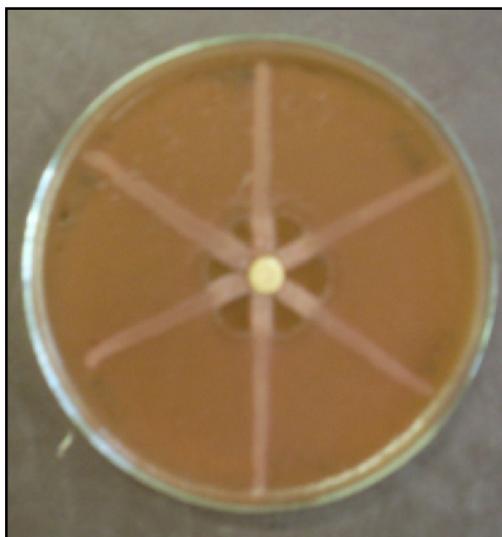
La production de la céphalosporinase est observée lorsqu'il y a une restauration de l'activité des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération en présence d'une concentration définie de la cloxacilline. Pour l'ensemble des souches étudiées, la sensibilité à la ceftazidime n'a pas été restaurée sur gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline.

Étant donné la multirésistance des souches, la recherche de la production de BLSE a été réalisée par tests d'accroissement de la zone d'inhibition autour des disques du céfotaxime, de ceftazidime et de céfépime additionnés d'acide clavulanique. Un accroissement de la zone d'inhibition autour du disque du céfotaxime a été observé (Figure 14).



**Figure 14. Résultat du test de l'accroissement de la zone d'inhibition**

Pour les souches catégorisées IPM R, différents tests phénotypiques ont été réalisés afin de rechercher la présence d'enzymes à activité carbapénémase. Le test de Hodge s'est révélé positif (Figure 15) alors que le test IPM-EDTA s'est révélé négatif. Les souches n'ont montré aucun accroissement de zone d'inhibition autour du disque d'imipénème additionné d'EDTA.



**Figure 15. Résultat du test de Hodge**

### 1.3. Typage des souches d'*A. baumannii*

Le typage des souches a été réalisé par électrophorèse en champ pulsé des fragments d'ADN génomique obtenus après la digestion par l'enzyme *ApaI*. Les souches de la catégorie IPM S (n=7) ont présenté un pulsotype polyclonale alors que celles de la catégorie IPM R (n=16) ont été réparties en deux clones distincts (Figure 16 et 17).

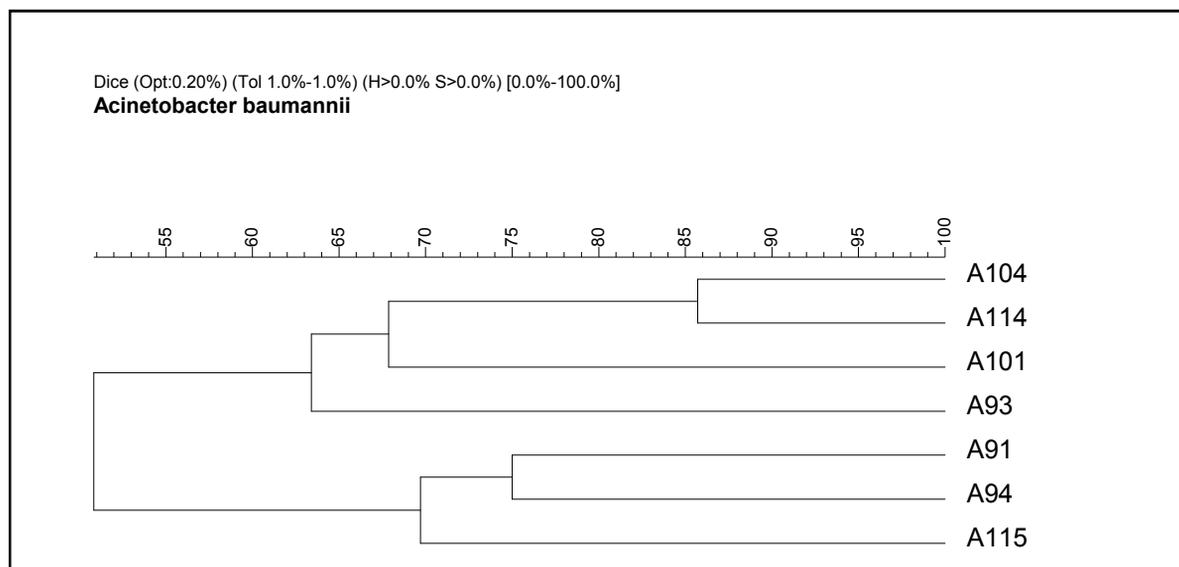


Figure 16. Dendrogramme de souches d'*A. baumannii* sensibles à l'imipénème (IPM S)

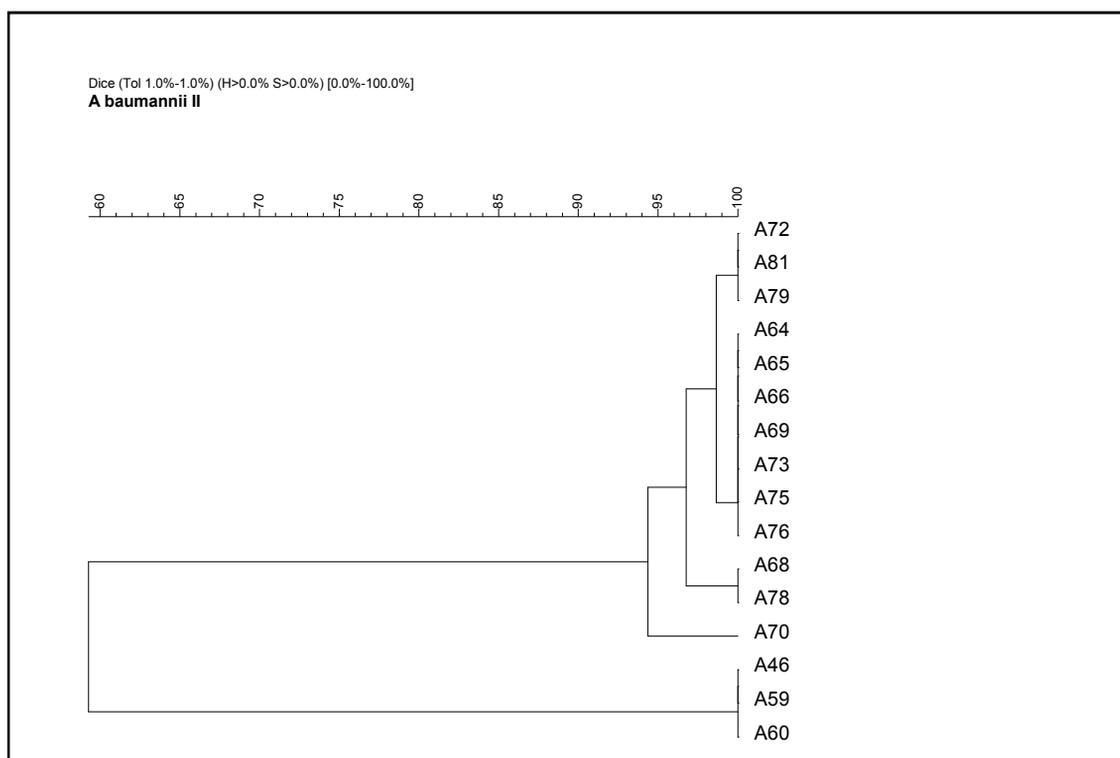


Figure 17. Dendrogramme de souches d'*A. baumannii* résistantes à l'imipénème (IPM R)

#### **1.4. Recherche des gènes de résistance aux $\beta$ -lactamines**

Pour les souches catégorisées IPM S, des PCR ont été réalisées à la recherche des gènes codant pour les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi suivant : CTX-M, PER-1, GES-1 et VEB-1

. Les résultats se sont avérés négatifs pour l'ensemble des PCR effectuées.

Pour les souches catégorisées IPM R, 16 ont été envoyées au service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital Bicêtre, pour faire l'objet d'investigations moléculaires.

Le gène *bla*<sub>OXA-58</sub> a été identifié chez toutes les souches, flanqué à ces deux extrémités de la séquence d'insertion IS*Aba3* et porté par un plasmide non conjugatif.

## 2. Discussion

*Acinetobacter baumannii* est une espèce fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales. Il s'agit d'un pathogène opportuniste qui peut être responsable d'infections sévères malgré sa faible virulence en particulier chez les immunodéprimés (Mansour et al. 2008). Cette bactérie dispose d'un arsenal enzymatique extrêmement vaste et divers pour contrer l'action antibiotique (Poirel & Nordmann 2006b). Elle possède des mécanismes de résistance naturelle aux  $\beta$ -lactamines correspondant principalement à la production d'une céphalosporinase chromosomique ( $\beta$ -lactamase de type AmpC).

Ce mécanisme peut être hyperproduit lorsque la séquence d'insertion IS*AbaI*, apportant des séquences promotrices fortes, est insérée en amont du gène codant pour cette AmpC (Heritier et al. 2006). Les souches d'*A. baumannii* catégorisées IPM S concernées par cette étude ont toutes montré ce phénotype et nous pourrions ainsi associer la résistance aux  $\beta$ -lactamines de ces souches à l'hyperproduction de cette enzyme chromosomique due à la présence d'IS*AbaI*. A côté de l'AmpC, les souches d'*A. baumannii* isolées d'infections nosocomiales produisent divers pénicillinases à médiation plasmidique (Joly-Guillou & Bergogne-Bérézin 2006). Ces enzymes confèrent la résistance aux pénicillines à large spectre (ticarcilline, pipéracilline) et sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam (Decré 2012). Ces enzymes pourraient également être impliquées dans la multirésistance des souches IPM S étudiées.

L'étude des profils de macrorestriction de l'ADN génomique par l'enzyme de restriction *ApaI* nous a permis de démontrer le caractère polyclonal des souches d'*A. baumannii* catégorisées IPM S, alors que les souches d'*A. baumannii* catégorisées IPM R étaient de nature clonale.

Plusieurs épidémies dues à des souches d'*A. baumannii* résistantes aux carbapénèmes ont récemment été rapportées dans différentes régions du monde. Les principaux mécanismes de cette résistance sont la production d'oxacillinases à activité carbapénémase et plus rarement de métallob- $\beta$ -lactamases (Poirel & Nordmann 2006a).

Seize souches d'*A. baumannii* catégorisées IPM R ont été envoyées au service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital de Bicêtre. Douze souches ont été isolées à partir de 7 patients différents et 4 ont été isolées de l'environnement du service de réanimation. Toutes les souches étaient résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, à l'aztréonam, à l'imipénème (16 µg/ml), aux fluoroquinolones et aux aminosides. Le génotypage de ces souches par champ pulsé a permis de mettre en évidence la nature clonale des souches étudiées. L'investigation moléculaire de la résistance aux carbapénèmes a permis d'identifier le gène *bla*<sub>OXA-58</sub> chez l'ensemble des souches étudiées. L'extraction de plasmide, suivie par l'électro transformation dans une souche réceptrice d'*A. baumannii*, a révélé que le gène *bla*<sub>OXA-58</sub> était porté par un plasmide qui transfère une faible sensibilité à l'imipénème et non pas à la ceftazidime. Les investigations génétiques ont montré que le gène *bla*<sub>OXA-58</sub> était flaqué à ces deux extrémités par la séquence d'insertion IS*Aba3* (IS*Aba3*-*bla*<sub>OXA-58</sub>-IS*Aba3*) qui probablement a été à l'origine de son acquisition et de son expression (Poirel & Nordmann 2006c). Les résultats de cette étude montrent une situation épidémique à *A. baumannii* produisant la carbapénémase OXA-58. Le plasmide portant le gène *bla*<sub>OXA-58</sub>, décrit dans cette étude, contribue à la diffusion rapide de la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen.

Compte tenu de l'importance de la diffusion clonale des souches d'*A. baumannii* et de l'importance du manuportage dans le phénomène de dissémination, les méthodes de prévention s'appuyant sur les précautions de barrière sont tout à fait adaptées à cette bactérie. Elles comportent les recommandations habituelles d'isolement géographique et technique du patient infecté, l'utilisation de matériel à usage unique et le nettoyage fréquent de l'environnement du patient (Joly-Guillou & Bergogne-Bérézin 2006). Une prévention efficace doit aussi tenir compte des données de surveillance de la prévalence et de la résistance aux antibiotiques des souches d'*A. baumannii* dans les services de réanimation et de chirurgie.

# **Conclusion générale**

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique en Algérie et à travers le monde. En effet, ces dix dernières années, nous avons constaté une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particulier chez les bacilles à Gram négatif. La synthèse bibliographique, portant sur l'actualité de la résistance aux antibiotiques à l'échelle nationale, nous a permis de montrer que les  $\beta$ -lactamases du groupe CTX-M-1, en particulier CTX-M-3 et CTX-M-15, sont les principales BLSE décrites en Algérie. L'expansion de ces BLSE, en communauté par des souches d'*E.coli*, représente une menace pour la santé publique. Le risque étant le traitement des infections à entérobactéries produisant les CTX-M en milieu hospitalier et communautaire par les carbapénèmes entraînant inéluctablement l'émergence de la résistance vis-à-vis de cette molécule de dernier recours.

Jusqu'à présent, une seule étude a rapporté la présence de carbapénémase (VIM-19) chez des souches d'entérobactéries à Alger. Cependant, Poirel et al, suggèrent que la carbapénémase OXA-48 est endémique dans notre pays.

La situation relative aux souches d'*A. baumannii* résistantes aux carbapénèmes semble être plus inquiétante. La carbapénémase OXA-23 est la plus répandue en Algérie et semble devenir endémique dans le nord du pays. La carbapénémase NDM-1 a également été identifiée chez les souches d'*A. baumannii* à l'ouest du pays. Cette enzyme, identifiée initialement en 2009 chez un patient ayant séjourné en Inde, semble être déjà propagée au nord de l'Afrique.

La résistance aux aminosides en Algérie est marquée par l'identification du gène *armA* associé aux gènes *bla*<sub>CTX-M</sub> chez des souches de *salmonella* sp. Plusieurs autres gènes de résistance ont été identifiés de façon sporadique chez des souches d'entérobactéries, de *P. aeruginosa* et d'*A. baumannii*.

Les gènes de résistance aux fluoroquinolones sont d'identification récente en Algérie. La première étude qui a rapporté la présence des gènes *qnr* fut en 2008 chez des souches d'*E. cloacae*. Par la suite, plusieurs études ont identifié différents variants de déterminants *qnr* souvent en association avec le gène *aac(6')-Ib-cr* chez des souches d'entérobactéries.

L'étude, que nous avons entreprise sur les entérobactéries, nous a permis de montrer que le risque épidémique lié à la dissémination du gène *bla<sub>CTX-15</sub>* au niveau du CHU de Tlemcen est lié à la circulation des clones épidémiques de *K. pneumoniae* ST15 et ST931 et au transfert de plasmides entre souches non reliées. La majorité des souches étudiées exprimait également souvent des marqueurs de résistance additionnels, tels les gènes *aac(3')-II*, *qnrB2*, *aac(6')-Ib-cr*, *sul1*, *sul2* et les gènes cassettes *aadA2*, *dfrA1* et *dfrA12*.

Nous avons également pu montrer qu'il existe bien deux types de populations de *bla<sub>CTX-M-15</sub>*. L'une dérive du CTX-M-3 dans un contexte clinique algérien et l'autre est universellement trouvée.

Par ailleurs, nous avons pu mettre en évidence une situation épidémique à *A. baumannii* produisant la carbapénémase OXA-58. L'identification de cette enzyme doit être considérée comme un signal d'alarme dans ce service à risque. La dissémination dans les autres services pourrait confronter les médecins à de véritables impasses thérapeutiques et, par conséquent, compliquer la prise en charge des patients.

Au vu des résultats obtenus au cours de cette étude, nous pouvons dire que la résistance aux antibiotiques au niveau du CHU de Tlemcen devient de plus en plus préoccupante. Des mesures devront être prises afin de préserver l'efficacité des molécules encore disponibles. Un meilleur contrôle de la consommation en antibiotiques au sein de l'établissement et une meilleure maîtrise en terme d'hygiène hospitalière seraient des facteurs favorisant une meilleure maîtrise des risques de dissémination des bactéries multirésistantes.

Le suivi de la résistance aux antibiotiques doit être impérativement généralisé et doit faire partie intégrante du programme de lutte contre les bactéries multirésistantes.

Il serait intéressant que, dans un futur proche, les laboratoires cliniques soient munis de méthodes appropriées pour des détections rapides et fiables des gènes de résistance aux différentes classes d'antibiotiques. De plus, la formation et la sensibilisation du personnel soignant et aide soignant sur le problème de la résistance nous semble impérative.

La caractérisation des gènes de résistance et le typage des souches pourraient permettre une meilleure compréhension des modes de diffusion et la mise en évidence des nouvelles résistances.

Le problème de la résistance aux antibiotiques doit être abordé d'une manière pluridisciplinaire, où biologistes, pharmaciens et cliniciens devront travailler ensemble.

Ainsi, comme perspectives de ce travail, nous proposons de

- réaliser des enquêtes sur la consommation en antibiotiques
- étudier le potentiel de virulence des souches bactériennes dans le but de mieux appréhender le problème de la multirésistance bactérienne
- étudier la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en milieu communautaire
- faire des campagnes de sensibilisation qui permettront d'améliorer l'hygiène des mains en collectivité et faire comprendre les risques liés à l'utilisation abusive des antibiotiques.

# **Références bibliographiques**

1. Aktas, Z., Kayacan, C. B., Schneider, I., Can, B., Midilli, K., and Bauernfeind, A. 2008 Carbapenem-hydrolyzing oxacillinase, OXA-48, persists in *Klebsiella pneumoniae* in Istanbul, Turkey. *Chemotherapy* 54, 101-106.
2. Ambler, R. P. 1980 The structure of beta-lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* 289, 321-331.
3. Antunes, P., Machado, J., and Peixe, L. 2006 Characterization of antimicrobial resistance and class 1 and 2 integrons in *Salmonella enterica* isolates from different sources in Portugal. *J. Antimicrob. Chemother.* 58, 297-304.
4. Antunes, P., Machado, J., and Peixe, L. 2007 Dissemination of sul3-containing elements linked to class 1 integrons with an unusual 3' conserved sequence region among *Salmonella* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, 1545-1548.
5. Arpin, C., Quentin, C., Grobost, F., Cambau, E., Robert, J., Dubois, V., Coulange, L., and Andre, C. 2009 Nationwide survey of extended-spectrum {beta}-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the French community setting. *J. Antimicrob. Chemother.* 63, 1205-1214.
6. Aubert, D., Naas, T., Lartigue, M. F., and Nordmann, P. 2005 Novel genetic structure associated with an extended-spectrum beta-lactamase bla<sub>VEB</sub> gene in a *Providencia stuartii* clinical isolate from Algeria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 3590-3592.
7. Bachman, M. A., Oyler, J. E., Burns, S. H., Caza, M., Lepine, F., Dozois, C. M., and Weiser, J. N. 2011 *Klebsiella pneumoniae* yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2. *Infect. Immun.* 79, 3309-3316.
8. Bakour, S., Kempf, M., Touati, A., Ait, A. A., Haouchine, D., Sahli, F., and Rolain, J. M. 2012 Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in two university hospitals in Algeria. *J. Med. Microbiol.* 61, 1341-1343.
9. Ball, P. 2000 Quinolone generations: natural history or natural selection? *J. Antimicrob. Chemother.* 46 Suppl T1, 17-24.
10. Bauernfeind, A., Chong, Y., and Lee, K. 1998 Plasmid-encoded AmpC beta-lactamases: how far have we gone 10 years after the discovery? *Yonsei Med. J.* 39, 520-525.
11. Bean, D. C., Livermore, D. M., and Hall, L. M. 2009 Plasmids imparting sulfonamide resistance in *Escherichia coli*: implications for persistence. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 1088-1093.
12. Bean, D. C., Livermore, D. M., Papa, I., and Hall, L. M. 2005 Resistance among *Escherichia coli* to sulphonamides and other antimicrobials now little used in man. *J. Antimicrob. Chemother.* 56, 962-964.
13. Bercot, B., Poirel, L., and Nordmann, P. 2011 Updated multiplex polymerase chain reaction for detection of 16S rRNA methylases: high prevalence among NDM-1 producers. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 71, 442-445.
14. Bergogne-Berezin, E. and Towner, K. J. 1996 *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin. Microbiol. Rev.* 9, 148-165.

15. Berrazeg, M., Drissi, M., Medjahed, L., and Rolain, J. M. 2013 Hierarchical clustering as a rapid tool for surveillance of emerging antibiotic resistance phenotypes in *Klebsiella pneumoniae* strains. *J. Med. Microbiol.*
16. Blahna, M. T., Zalewski, C. A., Reuer, J., Kahlmeter, G., Foxman, B., and Marrs, C. F. 2006 The role of horizontal gene transfer in the spread of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among uropathogenic *Escherichia coli* in Europe and Canada. *J. Antimicrob. Chemother.* 57, 666-672.
17. Bogaerts, P., Bouchahrouf, W., de Castro, R. R., Deplano, A., Berhin, C., Pierard, D., Denis, O., and Glupczynski, Y. 2011 Emergence of NDM-1-producing Enterobacteriaceae in Belgium. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 3036-3038.
18. Bogaerts, P., Galimand, M., Bauraing, C., Deplano, A., Vanhoof, R., De, M. R., Rodriguez-Villalobos, H., Struelens, M., and Glupczynski, Y. 2007 Emergence of ArmA and RmtB aminoglycoside resistance 16S rRNA methylases in Belgium. *J. Antimicrob. Chemother.* 59, 459-464.
19. Bonnet, R. 2004 Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48, 1-14.
20. Boulanger, A., Naas, T., Fortineau, N., Figueiredo, S., and Nordmann, P. 2012 NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* from Algeria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56, 2214-2215.
21. Bouzidi, N., Aoun, L., Dekhil, M., Granier, S. A., Poirel, L., Brisabois, A., Nordmann, P., and Millemann, Y. 2011 Co-occurrence of aminoglycoside resistance gene *armA* in non-Typhi *Salmonella* isolates producing CTX-M-15 in Algeria. *J. Antimicrob. Chemother.* 66, 2180-2181.
22. Boyd, D. A., Tyler, S., Christianson, S., McGeer, A., Muller, M. P., Willey, B. M., Bryce, E., Gardam, M., Nordmann, P., and Mulvey, M. R. 2004 Complete nucleotide sequence of a 92-kilobase plasmid harboring the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase involved in an outbreak in long-term-care facilities in Toronto, Canada. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48, 3758-3764.
23. Bradford, P. A. 2001 Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.* 14, 933-51, table.
24. Bratu, S., Landman, D., Haag, R., Recco, R., Eramo, A., Alam, M., and Quale, J. 2005 Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch. Intern. Med.* 165, 1430-1435.
25. Brisse, S., Fevre, C., Passet, V., Issenhuth-Jeanjean, S., Tournebize, R., Diancourt, L., and Grimont, P. 2009 Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. *PLoS. One.* 4, e4982.
26. Brolund, A., Sundqvist, M., Kahlmeter, G., and Grape, M. 2010 Molecular characterisation of trimethoprim resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during a two year intervention on trimethoprim use. *PLoS. One.* 5, e9233.
27. Bushby, S. R. and Hitchings, G. H. 1968 Trimethoprim, a sulphonamide potentiator. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 33, 72-90.

28. CA SFM 2008 Communiqué du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr/>.
29. Canton, R. and Coque, T. M. 2006 The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr. Opin. Microbiol.* 9, 466-475.
30. Carattoli, A., Bertini, A., Villa, L., Falbo, V., Hopkins, K. L., and Threlfall, E. J. 2005 Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J. Microbiol. Methods* 63, 219-228.
31. Carbonne, A., Naas, T., Blanckaert, K., Couzigou, C., Cattoen, C., Chagnon, J. L., Nordmann, P., and Astagneau, P. 2005 Investigation of a nosocomial outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a hospital setting. *J. Hosp. Infect.* 60, 14-18.
32. Carrer, A., Poirel, L., Yilmaz, M., Akan, O. A., Feriha, C., Cuzon, G., Matar, G., Honderlick, P., and Nordmann, P. 2010 Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54, 1369-1373.
33. Casin, I., Hanau-Bercot, B., Podglajen, I., Vahaboglu, H., and Collatz, E. 2003 *Salmonella enterica* serovar Typhimurium bla(PER-1)-carrying plasmid pSTI1 encodes an extended-spectrum aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase of type Ib. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 697-703.
34. Castanheira, M., Fritsche, T. R., Sader, H. S., and Jones, R. N. 2008 RmtD 16S RNA methylase in epidemiologically unrelated spm-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother.* 52, 1587-1588.
35. Cattoir, V. 2012 Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue Francophone des laboratoires* 445, 79-87.
36. Cavaco, L. M., Hasman, H., Xia, S., and Aarestrup, F. M. 2009 qnrD, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and *Bovismorbificans* strains of human origin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 603-608.
37. Cavallo, J. D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., and Garrabé, E. 2004 Bêtalactamines. *EMC-Maladies infectieuses* 1, 129-202.
38. Chouchani, C., Marrakchi, R., and El, S. A. 2011 Evolution of beta-lactams resistance in Gram-negative bacteria in Tunisia. *Crit Rev. Microbiol.* 37, 167-177.
39. Clermont, O., Dhanji, H., Upton, M., Gibreel, T., Fox, A., Boyd, D., Mulvey, M. R., Nordmann, P., Ruppe, E., Sarthou, J. L., Frank, T., Vimont, S., Arlet, G., Branger, C., Woodford, N., and Denamur, E. 2009 Rapid detection of the O25b-ST131 clone of *Escherichia coli* encompassing the CTX-M-15-producing strains. *J. Antimicrob. Chemother.* 64, 274-277.
40. Courvalin, P. 2008 New plasmid-mediated resistances to antimicrobial agents. *Arch. Microbiol.* 189, 289-291.
41. Cuzon, G., Naas, T., Lesenne, A., Benhamou, M., and Nordmann, P. 2010a Plasmid-mediated carbapenem-hydrolysing OXA-48 beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* from Tunisia. *Int. J. Antimicrob. Agents* 36, 91-93.

42. Cuzon, G., Naas, T., and Nordmann, P. 2010b [KPC carbapenemases: what is at stake in clinical microbiology?]. *Pathol. Biol (Paris)* 58, 39-45.
43. Dahmen, S., Bettaieb, D., Mansour, W., Boujaafar, N., Bouallegue, O., and Arlet, G. 2010a Characterization and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of Enterobacteriaceae in a Tunisian University Hospital. *Microb. Drug Resist.* 16, 163-170.
44. Dahmen, S., Mansour, W., Boujaafar, N., Arlet, G., and Bouallegue, O. 2010b Distribution of cotrimoxazole resistance genes associated with class 1 integrons in clinical isolates of Enterobacteriaceae in a university hospital in Tunisia. *Microb. Drug Resist.* 16, 43-47.
45. Damjanova, I., Toth, A., Paszti, J., Hajbel-Vekony, G., Jakab, M., Berta, J., Milch, H., and Fuzi, M. 2008 Expansion and countrywide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clones in Hungary in 2005--the new 'MRSA's'? *J. Antimicrob. Chemother.* 62, 978-985.
46. Datta, N. and Kontomichalou, P. 1965 Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* 208, 239-241.
47. Decre, D. 2012 *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques: un modèle d'adaptation. *Revue Francophone des laboratoires* 441, 43-52.
48. Decre, D., Verdet, C., Emirian, A., Le, G. T., Petit, J. C., Offenstadt, G., Maury, E., Brisse, S., and Arlet, G. 2011 Emerging severe and fatal infections due to *Klebsiella pneumoniae* in two university hospitals in France. *J. Clin. Microbiol.* 49, 3012-3014.
49. Decre, D., Verdet, C., Raskine, L., Blanchard, H., Burghoffer, B., Philippon, A., Sanson-Le-Pors, M. J., Petit, J. C., and Arlet, G. 2002 Characterization of CMY-type beta-lactamases in clinical strains of *Proteus mirabilis* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in four hospitals in the Paris area. *J. Antimicrob. Chemother.* 50, 681-688.
50. Deng, Y., He, L., Chen, S., Zheng, H., Zeng, Z., Liu, Y., Sun, Y., Ma, J., Chen, Z., and Liu, J. H. 2011 F33:A-B- and F2:A-B- plasmids mediate dissemination of rmtB-blaCTX-M-9 group genes and rmtB-qepA in Enterobacteriaceae isolates from pets in China. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 4926-4929.
51. Diancourt, L., Passet, V., Verhoef, J., Grimont, P. A., and Brisse, S. 2005 Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J. Clin. Microbiol.* 43, 4178-4182.
52. Doi, Y. and Arakawa, Y. 2007 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin. Infect. Dis.* 45, 88-94.
53. Doi, Y., Ghilardi, A. C., Adams, J., de Oliveira, G. D., and Paterson, D. L. 2007 High prevalence of metallo-beta-lactamase and 16S rRNA methylase coproduction among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, 3388-3390.
54. Doumith, M., Ellington, M. J., Livermore, D. M., and Woodford, N. 2009 Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. clinical isolates from the UK. *J. Antimicrob. Chemother.* 63, 659-667.

55. Drieux, L., Brossier, F., Sougakoff, W., and Jarlier, V. 2008 Phenotypic detection of extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clin. Microbiol. Infect.* 14 Suppl 1, 90-103.
56. Drissi, M., Baba Ahmed, Z., Dehecq, B., Bakour, R., Plesiat, P., and Hocquet, D. 2008 Antibiotic susceptibility and mechanisms of beta-lactam resistance among clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*: first report in Algeria. *Med. Mal Infect.* 38, 187-191.
57. Drlica, K. and Zhao, X. 1997 DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61, 377-392.
58. Dubois, V., Arpin, C., Coulange, L., Andre, C., Noury, P., and Quentin, C. 2006 TEM-21 extended-spectrum beta-lactamase in a clinical isolate of *Alcaligenes faecalis* from a nursing home. *J. Antimicrob. Chemother.* 57, 368-369.
59. Eckert, C., Gautier, V., and Arlet, G. 2006 DNA sequence analysis of the genetic environment of various blaCTX-M genes. *J. Antimicrob. Chemother.* 57, 14-23.
60. Elhani, D. 2012 Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît. *Ann Biol Clin* 70, 117-140.
61. Espinal, P., Fugazza, G., Lopez, Y., Kasma, M., Lerman, Y., Malhotra-Kumar, S., Goossens, H., Carmeli, Y., and Vila, J. 2011 Dissemination of an NDM-2-producing *Acinetobacter baumannii* clone in an Israeli rehabilitation center. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 5396-5398.
62. Frank, T., Gautier, V., Talarmin, A., Bercion, R., and Arlet, G. 2007 Characterization of sulphonamide resistance genes and class 1 integron gene cassettes in Enterobacteriaceae, Central African Republic (CAR). *J. Antimicrob. Chemother.* 59, 742-745.
63. Galimand, M., Courvalin, P., and Lambert, T. 2003 Plasmid-mediated high-level resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae due to 16S rRNA methylation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 2565-2571.
64. Galimand, M., Courvalin, P., and Lambert, T. 2012 RmtF, a new member of the aminoglycoside resistance 16S rRNA N7 G1405 methyltransferase family. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56, 3960-3962.
65. Galleni, M., Amicosante, G., and Frere, J. M. 1988 A survey of the kinetic parameters of class C beta-lactamases. Cephalosporins and other beta-lactam compounds. *Biochem. J.* 255, 123-129.
66. Gassama, S. A., Aidara-Kane, A., Barraud, O., Gatet, M., Denis, F., and Ploy, M. C. 2010 High prevalence of trimethoprim-resistance cassettes in class 1 and 2 integrons in Senegalese *Shigella* spp isolates. *J. Infect. Dev. Ctries.* 4, 207-212.
67. Gavin, P. J., Suseno, M. T., Thomson, R. B., Jr., Gaydos, J. M., Pierson, C. L., Halstead, D. C., Aslanzadeh, J., Brecher, S., Rotstein, C., Brossette, S. E., and Peterson, L. R. 2006 Clinical correlation of the CLSI susceptibility breakpoint for piperacillin-tazobactam against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 2244-2247.

68. Gellert, M., Mizuuchi, K., O'Dea, M. H., Itoh, T., and Tomizawa, J. I. 1977 Nalidixic acid resistance: a second genetic character involved in DNA gyrase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 74, 4772-4776.
69. Gharout-Sait, A., Touati, A., Benallaoua, S., Guillard, T., Brasme, L., Madoux, J., and de Champs, C. 2012 CTX-M from community-acquired urinary tract infections in Algeria. *African Journal of Microbiology Research* 6, 5306-5313.
70. Gniadkowski, M. 2008 Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation. *Clin. Microbiol. Infect.* 14 Suppl 1, 11-32.
71. Grall, N., Andremont, A., and Armand-Lefèvre, L. 2011 résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse ? *Journal des Anti-infectieux*.
72. Grape, M., Farra, A., Kronvall, G., and Sundstrom, L. 2005 Integrons and gene cassettes in clinical isolates of co-trimoxazole-resistant Gram-negative bacteria. *Clin. Microbiol. Infect.* 11, 185-192.
73. Guerra, B., Junker, E., Schroeter, A., Malorny, B., Lehmann, S., and Helmuth, R. 2003 Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. *J. Antimicrob. Chemother.* 52, 489-492.
74. Gulmez, D., Woodford, N., Palepou, M. F., Mushtaq, S., Metan, G., Yakupogullari, Y., Kocagoz, S., Uzun, O., Hascelik, G., and Livermore, D. M. 2008 Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int. J. Antimicrob. Agents* 31, 523-526.
75. Hammerum, A. M., Sandvang, D., Andersen, S. R., Seyfarth, A. M., Porsbo, L. J., Frimodt-Moller, N., and Heuer, O. E. 2006 Detection of sul1, sul2 and sul3 in sulphonamide resistant *Escherichia coli* isolates obtained from healthy humans, pork and pigs in Denmark. *Int. J. Food Microbiol.* 106, 235-237.
76. Hata, M., Suzuki, M., Matsumoto, M., Takahashi, M., Sato, K., Ibe, S., and Sakae, K. 2005 Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 801-803.
77. Hawkey, P. M. 2008 The growing burden of antimicrobial resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 62 Suppl 1, i1-i9.
78. Heikkila, E., Sundstrom, L., Skurnik, M., and Huovinen, P. 1991 Analysis of genetic localization of the type I trimethoprim resistance gene from *Escherichia coli* isolated in Finland. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35, 1562-1569.
79. Heritier, C., Poirel, L., Fournier, P. E., Claverie, J. M., Raoult, D., and Nordmann, P. 2005 Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 4174-4179.
80. Heritier, C., Poirel, L., and Nordmann, P. 2006 Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii*. *Clin. Microbiol. Infect.* 12, 123-130.
81. Hirai, K., Aoyama, H., Irikura, T., Iyobe, S., and Mitsuhashi, S. 1986 Differences in susceptibility to quinolones of outer membrane mutants of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 29, 535-538.

82. Hopkins, K. L., Davies, R. H., and Threlfall, E. J. 2005 Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. *Int. J. Antimicrob. Agents* 25, 358-373.
83. Humeniuk, C., Arlet, G., Gautier, V., Grimont, P., Labia, R., and Philippon, A. 2002 Beta-lactamases of *Kluyvera ascorbata*, probable progenitors of some plasmid-encoded CTX-M types. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 3045-3049.
84. Huovinen, P. 2001 Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole. *Clin. Infect. Dis.* 32, 1608-1614.
85. Huovinen, P., Sundstrom, L., Swedberg, G., and Skold, O. 1995 Trimethoprim and sulfonamide resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39, 279-289.
86. Ibadene, H., Bakour, R., Messai, Y., Da, C. A., and Arlet, G. 2009a [Detection of bla CTX-M-14 and aac(3)-II genes in *Salmonella enterica* serotype Kedougou in Algeria]. *Med. Mal Infect.* 39, 806-807.
87. Ibadene, H., Dallenne, C., Messai, Y., Geneste, D., Bakour, R., and Arlet, G. 2009b Emergence of extended-spectrum beta-lactamase PER-1 in *Proteus vulgaris* and *Providencia stuartii* isolates from Algiers, Algeria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 4043-4044.
88. Ibadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Alouache, S., Verdet, C., Bakour, R., and Arlet, G. 2009c Prevalence of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases among Enterobacteriaceae in Algiers hospitals. *Int. J. Antimicrob. Agents* 34, 340-342.
89. Ibadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Ramdani-Bougoussa, N., Lounes, S., Bakour, R., and Arlet, G. 2008 Dissemination of ESBL and Qnr determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria. *J. Antimicrob. Chemother.* 62, 133-136.
90. Infante, B., Grape, M., Larsson, M., Kristiansson, C., Pallecchi, L., Rossolini, G. M., and Kronvall, G. 2005 Acquired sulphonamide resistance genes in faecal *Escherichia coli* from healthy children in Bolivia and Peru. *Int. J. Antimicrob. Agents* 25, 308-312.
91. Jacoby, G. A. 2005 Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin. Infect. Dis.* 41 Suppl 2, S120-S126.
92. Jacoby, G. A., Walsh, K. E., Mills, D. M., Walker, V. J., Oh, H., Robicsek, A., and Hooper, D. C. 2006 qnrB, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 1178-1182.
93. Jiang, Y., Yu, D., Wei, Z., Shen, P., Zhou, Z., and Yu, Y. 2010 Complete nucleotide sequence of *Klebsiella pneumoniae* multidrug resistance plasmid pKP048, carrying blaKPC-2, blaDHA-1, qnrB4, and armA. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54, 3967-3969.
94. Joly-Guillou, M. L. and Bergogne-Bérézin, E. 2006 Les bactéries du genre *Acinetobacter* revisitées: leur importance actuelle. *Antibiotiques* 8, 94-99.
95. Kaase, M., Nordmann, P., Wichelhaus, T. A., Gatermann, S. G., Bonnin, R. A., and Poirel, L. 2011 NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. *J. Antimicrob. Chemother.* 66, 1260-1262.
96. Kado, C. I. and Liu, S. T. 1981 Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 145, 1365-1373.

97. Karthikeyan, K., Thirunarayan, M. A., and Krishnan, P. 2010 Coexistence of blaOXA-23 with blaNDM-1 and armA in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from India. *J. Antimicrob. Chemother.* 65, 2253-2254.
98. Kassis-Chikhani, N., Vimont, S., Asselat, K., Trivalle, C., Minassian, B., Sengelin, C., Gautier, V., Mathieu, D., Dussaix, E., and Arlet, G. 2004 CTX-M beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in long-term care facilities, France. *Emerg. Infect. Dis.* 10, 1697-1698.
99. Kempf, M., Bakour, S., Flaudrops, C., Berrazeg, M., Brunel, J. M., Drissi, M., Mesli, E., Touati, A., and Rolain, J. M. 2012 Rapid detection of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *PLoS. One.* 7, e31676.
100. Kermas, R., Touati, A., Brasme, L., Le Magrex-Debar, E., Mehrane, S., Weill, F. X., and De, C. C. 2012 Characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Salmonella enterica* serotype Brunei and Heidelberg at the Hussein Dey hospital in Algiers (Algeria). *Foodborne. Pathog. Dis.* 9, 803-808.
101. Kern, M. B., Klemmensen, T., Frimodt-Moller, N., and Espersen, F. 2002 Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of sul genes conferring sulphonamide resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 50, 513-516.
102. Kilic, A., Aktas, Z., Bedir, O., Gumral, R., Bulut, Y., Stratton, C., Tang, Y. W., and Basustaoglu, A. C. 2011 Identification and characterization of OXA-48 producing, carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates in Turkey. *Ann. Clin. Lab Sci.* 41, 161-166.
103. Kirby, W. M. 1944 EXTRACTION OF A HIGHLY POTENT PENICILLIN INACTIVATOR FROM PENICILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCI. *Science* 99, 452-453.
104. Koeck, J. L., Arlet, G., Philippon, A., Basmaciogullari, S., Thien, H. V., Buisson, Y., and Cavallo, J. D. 1997 A plasmid-mediated CMY-2 beta-lactamase from an Algerian clinical isolate of *Salmonella senftenberg*. *FEMS Microbiol. Lett.* 152, 255-260.
105. Lavollay, M., Mamlouk, K., Frank, T., Akpabie, A., Burghoffer, B., Ben, R. S., Bercion, R., Gautier, V., and Arlet, G. 2006 Clonal dissemination of a CTX-M-15 beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strain in the Paris area, Tunis, and Bangui. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 2433-2438.
106. Lee, K., Yong, D., Choi, Y. S., Yum, J. H., Kim, J. M., Woodford, N., Livermore, D. M., and Chong, Y. 2007 Reduced imipenem susceptibility in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates with plasmid-mediated CMY-2 and DHA-1 beta-lactamases co-mediated by porin loss. *Int. J. Antimicrob. Agents* 29, 201-206.
107. Liu, J. H., Deng, Y. T., Zeng, Z. L., Gao, J. H., Chen, L., Arakawa, Y., and Chen, Z. L. 2008 Coprevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QepA, Qnr, and AAC(6')-Ib-cr among 16S rRNA methylase RmtB-producing *Escherichia coli* isolates from pigs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 52, 2992-2993.
108. Livermore, D. M., Mushtaq, S., Warner, M., Zhang, J. C., Maharjan, S., Doumith, M., and Woodford, N. 2011 Activity of aminoglycosides, including ACHN-490, against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* 66, 48-53.

109. Luo, Y., Yang, J., Zhang, Y., Ye, L., Wang, L., and Guo, L. 2011 Prevalence of beta-lactamases and 16S rRNA methylase genes amongst clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates carrying plasmid-mediated quinolone resistance determinants. *Int. J. Antimicrob. Agents* 37, 352-355.
110. Ma, L., Siu, L. K., and Lu, P. L. 2011 Effect of spacer sequences between bla(CTX-M) and ISEcp1 on bla(CTX-M) expression. *J. Med. Microbiol.* 60, 1787-1792.
111. Magnet, S. and Blanchard, J. S. 2005 Molecular insights into aminoglycoside action and resistance. *Chem. Rev.* 105, 477-498.
112. Mansour, W., Bouallegue, O., Dahmen, S., and Boujaafar, N. 2008 [Characterization of the resistance mechanism to beta-lactams in *Acinetobacter baumannii* strains isolated in the university hospital Sahloul in Tunisia (2005)]. *Pathol. Biol. (Paris)* 56, 116-120.
113. Martinez-Martinez, L. 2008 Extended-spectrum beta-lactamases and the permeability barrier. *Clin. Microbiol. Infect.* 14 Suppl 1, 82-89.
114. Martinez-Martinez, L., Pascual, A., and Jacoby, G. A. 1998 Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 351, 797-799.
115. Meradi, L., Djahoudi, A., Abdi, A., Bouchakour, M., Perrier Gros Claude, J. D., and Timinouni, M. 2011 [Qnr and aac (6')-Ib-cr types quinolone resistance among Enterobacteriaceae isolated in Annaba, Algeria]. *Pathol. Biol. (Paris)* 59, e73-e78.
116. Mérens, A., Delacour, H., Plésiat, P., Cavallo, J.-D., and Jeannot, K. 2011 *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue Francophone des laboratoires* 435, 49-62.
117. Mérens, A. and Servonet, A. 2010 Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2010. *Revue Francophone des laboratoires* 422, 33-41.
118. Mesli, E., Berrazeg, M., Drissi, M., Bekkhoucha, S. N., and Rolain, J. M. 2013 Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo-beta-lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. *Int. J. Infect. Dis.*
119. Messai, Y., Ibadene, H., Benhassine, T., Alouache, S., Tazir, M., Gautier, V., Arlet, G., and Bakour, R. 2008 Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathol. Biol. (Paris)* 56, 319-325.
120. Mitsuyama, J., Itoh, Y., Takahata, M., Okamoto, S., and Yasuda, T. 1992 In vitro antibacterial activities of tosufloxacin against and uptake of tosufloxacin by outer membrane mutants of *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, and *Salmonella typhimurium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36, 2030-2036.
121. Mugnier, P. D., Poirel, L., Naas, T., and Nordmann, P. 2010 Worldwide dissemination of the blaOXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 35-40.
122. Naas, T., Bentchouala, C., Cuzon, G., Yaou, S., Lezzar, A., Smati, F., and Nordmann, P. 2011 Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Infantis producing ArmA 16S RNA methylase and CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase in a neonatology ward in Constantine, Algeria. *Int. J. Antimicrob. Agents* 38, 135-139.
123. Naas, T., Bentchouala, C., Lima, S., Lezzar, A., Smati, F., Scheftel, J. M., and Nordmann, P. 2009 Plasmid-mediated 16S rRNA methylases among extended-spectrum-beta-lactamase-

- producing *Salmonella enterica* Senftenberg isolates from Algeria. *J. Antimicrob. Chemother.* 64, 866-868.
124. Naas, T., Lezzar, A., Bentchouala, C., Smati, F., Scheftel, J. M., Monteil, H., and Nordmann, P. 2005 Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Senftenberg isolates producing CTX-M beta-lactamases from Constantine, Algeria. *J. Antimicrob. Chemother.* 56, 439-440.
125. Naas, T., Oxacelay, C., and Nordmann, P. 2007 Identification of CTX-M-type extended-spectrum-beta-lactamase genes using real-time PCR and pyrosequencing. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, 223-230.
126. Naas, T., Poirel, L., and Nordmann, P. 2008 Minor extended-spectrum beta-lactamases. *Clin. Microbiol. Infect.* 14 Suppl 1, 42-52.
127. Naas, T., Vandael, L., Sougakoff, W., Livermore, D. M., and Nordmann, P. 1994 Cloning and sequence analysis of the gene for a carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, Sme-1, from *Serratia marcescens* S6. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38, 1262-1270.
128. Nagano, N., Nagano, Y., Cordevant, C., Shibata, N., and Arakawa, Y. 2004 Nosocomial transmission of CTX-M-2 beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ward. *J. Clin. Microbiol.* 42, 3978-3984.
129. Nakano, R., Okamoto, R., Nakano, Y., Kaneko, K., Okitsu, N., Hosaka, Y., and Inoue, M. 2004 CFE-1, a novel plasmid-encoded AmpC beta-lactamase with an ampR gene originating from *Citrobacter freundii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48, 1151-1158.
130. Navarro, F., Perez-Trallero, E., Marimon, J. M., Aliaga, R., Gomariz, M., and Mirelis, B. 2001 CMY-2-producing *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* strains isolated in Spain (October 1999-December 2000). *J. Antimicrob. Chemother.* 48, 383-389.
131. Nedjai, S., Barguigua, A., Djahmi, N., Jamali, L., Zerouali, K., Dekhil, M., and Timinouni, M. 2012 Prevalence and characterization of extended spectrum beta-lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Med. Mal Infect.* 42, 20-29.
132. Nicolas-Chanoine, M. H., Blanco, J., Leflon-Guibout, V., Demarty, R., Alonso, M. P., Canica, M. M., Park, Y. J., Lavigne, J. P., Pitout, J., and Johnson, J. R. 2008 Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25:H4-ST131 producing CTX-M-15. *J. Antimicrob. Chemother.* 61, 273-281.
133. Nikaido, H. 1996 Multidrug efflux pumps of gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.* 178, 5853-5859.
134. Nordmann, P. and Carrer, A. 2010 [Carbapenemases in enterobacteriaceae]. *Arch. Pediatr.* 17 Suppl 4, S154-S162.
135. Nordmann, P., Cuzon, G., and Naas, T. 2009 The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect. Dis.* 9, 228-236.
136. Novick, R. P., Clowes, R. C., Cohen, S. N., Curtiss, R., III, Datta, N., and Falkow, S. 1976 Uniform nomenclature for bacterial plasmids: a proposal. *Bacteriol. Rev.* 40, 168-189.
137. Oteo, J., Navarro, C., Cercenado, E., Delgado-Iribarren, A., Wilhelmi, I., Orden, B., Garcia, C., Miguelanez, S., Perez-Vazquez, M., Garcia-Cobos, S., Aracil, B., Bautista, V., and Campos, J.

- 2006 Spread of *Escherichia coli* strains with high-level cefotaxime and ceftazidime resistance between the community, long-term care facilities, and hospital institutions. *J. Clin. Microbiol.* 44, 2359-2366.
138. Papanicolaou, G. A., Medeiros, A. A., and Jacoby, G. A. 1990 Novel plasmid-mediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and alpha-methoxy beta-lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34, 2200-2209.
139. Park, C. H., Robicsek, A., Jacoby, G. A., Sahm, D., and Hooper, D. C. 2006 Prevalence in the United States of *aac(6')-Ib-cr* encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 3953-3955.
140. Paterson, D. L. 2006 Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *Am. J. Infect. Control* 34, S20-S28.
141. Paton, R., Miles, R. S., Hood, J., Amyes, S. G., Miles, R. S., and Amyes, S. G. 1993 ARI 1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2, 81-87.
142. Perichon, B., Courvalin, P., and Galimand, M. 2007 Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, 2464-2469.
143. Perreten, V. and Boerlin, P. 2003 A new sulfonamide resistance gene (*sul3*) in *Escherichia coli* is widespread in the pig population of Switzerland. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 1169-1172.
144. Philippon, A. and Arlet, G. 2006  $\beta$ -lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! *Ann Biol Clin* 64, 37-51.
145. Philippon, A., Arlet, G., and Jacoby, G. A. 2002 Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 1-11.
146. Philippon, A., Labia, R., and Jacoby, G. 1989 Extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33, 1131-1136.
147. Poirel, L. and Nordmann, P. 2006a Résistance aux  $\beta$ -lactamines chez *Acinetobacter baumannii*: évolution et émergence de nouveaux mécanismes. *Antibiotiques* 8, 100-107.
148. Poirel, L., Benouda, A., Hays, C., and Nordmann, P. 2011a Emergence of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Morocco. *J. Antimicrob. Chemother.* 66, 2781-2783.
149. Poirel, L., Bonnin, R. A., and Nordmann, P. 2011b Analysis of the resistome of a multidrug-resistant NDM-1-producing *Escherichia coli* strain by high-throughput genome sequencing. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 4224-4229.
150. Poirel, L., Cattoir, V., and Nordmann, P. 2012a Plasmid-Mediated Quinolone Resistance; Interactions between Human, Animal, and Environmental Ecologies. *Front Microbiol.* 3, 24.
151. Poirel, L., Decousser, J. W., and Nordmann, P. 2003a Insertion sequence ISEcp1B is involved in expression and mobilization of a *bla*(CTX-M) beta-lactamase gene. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 2938-2945.

152. Poirel, L., Marque, S., Heritier, C., Segonds, C., Chabanon, G., and Nordmann, P. 2005 OXA-58, a novel class D  $\beta$ -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 202-208.
153. Poirel, L., Menuteau, O., Agoli, N., Cattoen, C., and Nordmann, P. 2003b Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. *J. Clin. Microbiol.* 41, 3542-3547.
154. Poirel, L. and Nordmann, P. 2006b Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin. Microbiol. Infect.* 12, 826-836.
155. Poirel, L. and Nordmann, P. 2006c Genetic structures at the origin of acquisition and expression of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase gene blaOXA-58 in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 1442-1448.
156. Poirel, L., Pitout, J. D., and Nordmann, P. 2007 Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future. Microbiol.* 2, 501-512.
157. Poirel, L., Potron, A., and Nordmann, P. 2012b OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J. Antimicrob. Chemother.* 67, 1597-1606.
158. Putman, M., van Veen, H. W., and Konings, W. N. 2000 Molecular properties of bacterial multidrug transporters. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 672-693.
159. Queenan, A. M. and Bush, K. 2007 Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.* 20, 440-58, table.
160. Radstrom, P., Swedberg, G., and Skold, O. 1991 Genetic analyses of sulfonamide resistance and its dissemination in gram-negative bacteria illustrate new aspects of R plasmid evolution. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35, 1840-1848.
161. Ramdani-Bouguessa, N., Manageiro, V., Jones-Dias, D., Ferreira, E., Tazir, M., and Canica, M. 2011 Role of SHV beta-lactamase variants in resistance of clinical *Klebsiella pneumoniae* strains to beta-lactams in an Algerian hospital. *J. Med. Microbiol.* 60, 983-987.
162. Ramdani-Bouguessa, N., Mendonca, N., Leitao, J., Ferreira, E., Tazir, M., and Canica, M. 2006 CTX-M-3 and CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamases in isolates of *Escherichia coli* from a hospital in Algiers, Algeria. *J. Clin. Microbiol.* 44, 4584-4586.
163. Ramirez, M. S. and Tolmasky, M. E. 2010 Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist. Updat.* 13, 151-171.
164. Robicsek, A., Strahilevitz, J., Jacoby, G. A., Macielag, M., Abbanat, D., Park, C. H., Bush, K., and Hooper, D. C. 2006a Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat. Med.* 12, 83-88.
165. Robicsek, A., Strahilevitz, J., Sahm, D. F., Jacoby, G. A., and Hooper, D. C. 2006b qnr prevalence in ceftazidime-resistant Enterobacteriaceae isolates from the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 2872-2874.
166. Robin, F., Gibold, L., and Bonnet, R. 2012 Résistances naturelles et acquises aux  $\beta$ -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne. *Revue Francophone des laboratoires* 445, 47-58.

167. Robin, F., Aggoune-Khinache, N., Delmas, J., Naim, M., and Bonnet, R. 2010 Novel VIM metallo-beta-lactamase variant from clinical isolates of Enterobacteriaceae from Algeria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54, 466-470.
168. Rodriguez-Martinez, J. M., Cano, M. E., Velasco, C., Martinez-Martinez, L., and Pascual, A. 2011 Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *J. Infect. Chemother.* 17, 149-182.
169. Rolain, J. M., Canton, R., and Cornaglia, G. 2012 Emergence of antibiotic resistance: need for a new paradigm. *Clin. Microbiol. Infect.* 18, 615-616.
170. Ronald, A. 2002 The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am. J. Med.* 113 Suppl 1A, 14S-19S.
171. Rossolini, G. M., D'Andrea, M. M., and Mugnaioli, C. 2008 The spread of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol. Infect.* 14 Suppl 1, 33-41.
172. Rossolini, G. M., Mantengoli, E., Docquier, J. D., Musmanno, R. A., and Coratza, G. 2007 Epidemiology of infections caused by multiresistant gram-negatives: ESBLs, MBLs, panresistant strains. *New Microbiol.* 30, 332-339.
173. Ruiz, J. 2003 Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J. Antimicrob. Chemother.* 51, 1109-1117.
174. Ruppé, E. 2010 Epidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques* 12, 3-16.
175. Shaw, K. J., Rather, P. N., Hare, R. S., and Miller, G. H. 1993 Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol. Rev.* 57, 138-163.
176. Skold, O. 2001 Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Vet. Res.* 32, 261-273.
177. Skold, O. 2010 Sulfonamides and trimethoprim. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 8, 1-6.
178. Skurnik, D. 2006 Antibiothérapie sélectionnante. De la théorie à la pratique. *Réanimation* 15, 198-204.
179. SMITH, J. T. 1963 Penicillinase and ampicillin resistance in a strain of Escherichia coli. *J. Gen. Microbiol.* 30, 299-306.
180. Strahilevitz, J., Jacoby, G. A., Hooper, D. C., and Robicsek, A. 2009 Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin. Microbiol. Rev.* 22, 664-689.
181. Styers, D., Sheehan, D. J., Hogan, P., and Sahm, D. F. 2006 Laboratory-based surveillance of current antimicrobial resistance patterns and trends among Staphylococcus aureus: 2005 status in the United States. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 5, 2.
182. Sugino, A., Peebles, C. L., Kreuzer, K. N., and Cozzarelli, N. R. 1977 Mechanism of action of nalidixic acid: purification of Escherichia coli nalA gene product and its relationship to DNA gyrase and a novel nicking-closing enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 74, 4767-4771.

183. Touati, A., Medboua, C., Touati, D., Denine, R., Brasme, L., and de Champs, C. 2012a CTX-M-15-producing Enterobacteriaceae isolates causing bloodstream infections at the Beni-Messous hospital in Algiers (Algeria). *International research Journal of Microbiology* 3, 181-185.
184. Touati, A., Benallaoua, S., Djoudi, F., Madoux, J., Brasme, L., and de Champs, C. 2007 Characterization of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains isolated from hospital environments in Algeria. *Microb. Drug Resist.* 13, 85-89.
185. Touati, A., Benallaoua, S., Forte, D., Madoux, J., Brasme, L., and de Champs, C. 2006 First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Bejaia, Algeria. *Int. J. Antimicrob. Agents* 27, 397-402.
186. Touati, A., Benallaoua, S., Gharout, A., Amar, A. A., Le Magrex, D. E., Brasme, L., Madoux, J., de Champs, C., and Weill, F. X. 2008a First report of CTX-M-15 in *Salmonella enterica* serotype Kedougou recovered from an Algerian hospital. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 27, 479-480.
187. Touati, A., Brasme, L., Benallaoua, S., Gharout, A., Madoux, J., and de Champs, C. 2008b First report of qnrB-producing *Enterobacter cloacae* and qnrA-producing *Acinetobacter baumannii* recovered from Algerian hospitals. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 60, 287-290.
188. Touati, A., Brasme, L., Benallaoua, S., Madoux, J., Gharout, A., and de Champs, C. 2008c *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing CTX-M-15 recovered from hospital environmental surfaces from Algeria. *J. Hosp. Infect.* 68, 183-185.
189. Touati, A., Zenati, K., Brasme, L., Benallaoua, S., and de Champs, C. 2010 Extended-spectrum beta-lactamase characterisation and heavy metal resistance of Enterobacteriaceae strains isolated from hospital environmental surfaces. *J. Hosp. Infect.* 75, 78-79.
200. Touati, M., Diene, S. M., Dekhil, M., Djahoudi, A., Racherache, A., and Rolain, J. M. 2013 Dissemination of class I integron carrying VIM-2 carbapenemase gene in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from intensive care unit of University Hospital of Annaba, Algeria. *Antimicrob. Agents Chemother.*
201. Touati, M., Diene, S. M., Racherache, A., Dekhil, M., Djahoudi, A., and Rolain, J. M. 2012b Emergence of blaOXA-23 and blaOXA-58 carbapenemase-encoding genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from University Hospital of Annaba, Algeria. *Int. J. Antimicrob. Agents* 40, 89-91.
202. Towner, K. J., Brennan, A., Zhang, Y., Holtham, C. A., Brough, J. L., and Carter, G. I. 1994 Genetic structures associated with spread of the type Ia trimethoprim-resistant dihydrofolate reductase gene amongst *Escherichia coli* strains isolated in the Nottingham area of the United Kingdom. *J. Antimicrob. Chemother.* 33, 25-32.
203. Tran, J. H. and Jacoby, G. A. 2002 Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 99, 5638-5642.
204. Tran, J. H., Jacoby, G. A., and Hooper, D. C. 2005 Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein QnrA with *Escherichia coli* topoisomerase IV. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 3050-3052.
205. Wachino, J. and Arakawa, Y. 2012 Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: an update. *Drug Resist. Updat.* 15, 133-148.

206. Walsh, T. R. 2008 Clinically significant carbapenemases: an update. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 21, 367-371.
207. Walther-Rasmussen, J. and Hoiby, N. 2007 Class A carbapenemases. *J. Antimicrob. Chemother.* 60, 470-482.
208. Wang, M., Guo, Q., Xu, X., Wang, X., Ye, X., Wu, S., Hooper, D. C., and Wang, M. 2009 New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 1892-1897.
209. Weldhagen, G. F., Poirel, L., and Nordmann, P. 2003 Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 2385-2392.
210. White, P. A., McIver, C. J., and Rawlinson, W. D. 2001 Integrons and gene cassettes in the enterobacteriaceae. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 2658-2661.
211. Wu, S., Dalsgaard, A., Hammerum, A. M., Porsbo, L. J., and Jensen, L. B. 2010 Prevalence and characterization of plasmids carrying sulfonamide resistance genes among *Escherichia coli* from pigs, pig carcasses and human. *Acta Vet. Scand.* 52, 47.
212. Yamane, K., Wachino, J., Suzuki, S., Kimura, K., Shibata, N., Kato, H., Shibayama, K., Konda, T., and Arakawa, Y. 2007 New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, 3354-3360.
213. Yan, J. J., Wu, J. J., Ko, W. C., Tsai, S. H., Chuang, C. L., Wu, H. M., Lu, Y. J., and Li, J. D. 2004 Plasmid-mediated 16S rRNA methylases conferring high-level aminoglycoside resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from two Taiwanese hospitals. *J. Antimicrob. Chemother.* 54, 1007-1012.
214. Yigit, H., Queenan, A. M., Anderson, G. J., Domenech-Sanchez, A., Biddle, J. W., Steward, C. D., Alberti, S., Bush, K., and Tenover, F. C. 2001 Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 1151-1161.
215. Yokoyama, K., Doi, Y., Yamane, K., Kurokawa, H., Shibata, N., Shibayama, K., Yagi, T., Kato, H., and Arakawa, Y. 2003 Acquisition of 16S rRNA methylase gene in *Pseudomonas aeruginosa*. *Lancet* 362, 1888-1893.
216. Yong, D., Toleman, M. A., Giske, C. G., Cho, H. S., Sundman, K., Lee, K., and Walsh, T. R. 2009 Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 5046-5054.
217. Yu, H. S., Lee, J. C., Kang, H. Y., Jeong, Y. S., Lee, E. Y., Choi, C. H., Tae, S. H., Lee, Y. C., Seol, S. Y., and Cho, D. T. 2004 Prevalence of *dfr* genes associated with integrons and dissemination of *dfrA17* among urinary isolates of *Escherichia coli* in Korea. *J. Antimicrob. Chemother.* 53, 445-450.
218. Yu, H. S., Lee, J. C., Kang, H. Y., Ro, D. W., Chung, J. Y., Jeong, Y. S., Tae, S. H., Choi, C. H., Lee, E. Y., Seol, S. Y., Lee, Y. C., and Cho, D. T. 2003 Changes in gene cassettes of class 1 integrons among *Escherichia coli* isolates from urine specimens collected in Korea during the last two decades. *J. Clin. Microbiol.* 41, 5429-5433.

219. Zacharczuk, K., Piekarska, K., Szych, J., Zawidzka, E., Sulikowska, A., Wardak, S., Jagielski, M., and Gierczynski, R. 2011 Emergence of *Klebsiella pneumoniae* coproducing KPC-2 and 16S rRNA methylase ArmA in Poland. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 443-446.

## ملخص

الزيادة في مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية يعرض الأطباء للصعاب في علاج التهابات ويشكل مشكلة صحية عامة. البكتيريا المقاومة غالبا ما تكون سببا في عدوى المرضى في المستشفيات وإطالة الاستشفاء وزيادة تكاليف العلاج. في المستشفيات الاستخدام الواسع النطاق للمضادات الحيوية والبيئة الداعمة لتبادل المادة الوراثية بين البكتيريا أدى إلى تطوير سلالات بكتيرية مقاومة.

في هذه الدراسة عالجتنا مشكلة مقاومة المضادات الحيوية في سلالات السرييرية والبيئية للامعاويات والأستوباكتر بوماني في وحدات العناية المركزة والجراحة في مستشفى جامعة تلمسان.

في سلالات البكتيريا المعوية (17 الإشريكية القولونية 50 الكلبسيلا الرنوية 4 الأمعانية المنزقية) أظهر التنميط الجزئي للمستقرات الطبيعية الإستنساخية الجينات المقاومة *dfrA12* في سلالات الأستوباكتر بوماني أظهر التنميط الجزئي للمستقرات الطبيعية الإستنساخية الكاربينيماز OXA-58 في 16 سلالات مقاومة للإمبينام. في هذه الدراسة تم إظهار أن البلاسميد الحامل للجين *bla<sub>OXA-58</sub>* كان له علاقة بالانتشار السريع للمقاومة للإمبينام في سلالات الأستوباكتر بوماني في وحدة العناية المركزة في مستشفى جامعة تلمسان.

مستمد من *bla<sub>CTX-M-3</sub>* و الأخرى موجودة عالميا. الرنوية ST931, ST15 ونقل البلازميد بين سلالات غير ذات صلة. توصيف المنطقة المتوسطة بين المتواليات *ISEcp1* و الجين *bla<sub>CTX-M-15</sub>* أظهر نوعين من الجينات واحدة مستمد من *bla<sub>CTX-M-3</sub>* والأخرى موجودة عالميا.

## Résumé

La progression des résistances bactériennes aux antibiotiques confronte les médecins à des infections difficiles à traiter et pose un problème de santé publique. Les bactéries résistantes sont souvent la cause d'infections nosocomiales aggravant le pronostic des malades, prolongeant leur hospitalisation et augmentant les coûts des traitements. En milieu hospitalier, la large utilisation des antibiotiques et l'environnement favorable aux échanges de matériel génétique entre bactéries sont propices au développement des résistances bactériennes multiples.

Au cours de cette thèse, nous abordons le problème de la résistance aux antibiotiques chez des souches cliniques et environnementales d'entérobactéries et d'*A. baumannii* isolées au niveau des services de réanimation et de chirurgie du CHU de Tlemcen.

Pour les souches d'entérobactéries (17 *Escherichia coli*, 50 *Klebsiella pneumoniae* et 4 *Enterobacter cloacae*), le séquençage a permis d'identifier les gènes de résistance *bla<sub>CTX-M-3</sub>*, *bla<sub>CTX-M-15</sub>*, *aac(3')-II*, *aac(6)-Ib-cr*, *qnrB2*, *su11* et *su12* et les gènes cassettes *aadA2*, *dfrA1* et *dfrA12*. La dissémination du gène *bla<sub>CTX-M-15</sub>* au niveau du CHU de Tlemcen a été reliée à la circulation des clones épidémiques de *K. pneumoniae* ST15 et ST931 et au transfert de plasmides entre souches non reliées. La caractérisation de la séquence *spacer* entre *ISEcp1* et *bla<sub>CTX-M-15</sub>* a permis d'individualiser 2 types de populations. Une qui dérive du CTX-M-3 sous un contexte clinique algérien et une qui est universellement trouvée.

Pour les souches d'*A. baumannii*, le séquençage a permis d'identifier la carabapénémase OXA-58 chez 16 souches résistantes à l'imipénème. Le plasmide portant le gène *bla<sub>OXA-58</sub>*, décrit dans cette étude, a été lié à la diffusion rapide de la résistance aux carabapénèmes chez *A. baumannii* au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen.

**Mots clés :** Entérobactéries, *A. baumannii*, Résistance aux antibiotiques, Epidémiologie.

## Abstract

The increase in bacterial resistance to antibiotics confronts doctors to treat difficult infections and involves a public health problem. Resistant bacteria are often the cause of nosocomial infections which make worse prognosis patients, prolong their hospitalization and increase treatment costs. In hospitals, the widespread use of antibiotics and favourable environment for exchange of genetic material between bacteria are propitious to the development of multiple bacterial resistance.

In this thesis, we tackle the problem of antibiotic resistance in clinical and environmental strains of Enterobacteriaceae and *A. baumannii* isolated in intensive care unit and surgery ward of the University Hospital of Tlemcen.

For Enterobacteriaceae strains (17 *Escherichia coli*, 50 *Klebsiella pneumoniae* and 4 *Enterobacter cloacae*) sequencing allowed to identify resistance genes *bla<sub>CTX-M-3</sub>*, *bla<sub>CTX-M-15</sub>*, *aac(3')-II*, *aac(6)-Ib-cr*, *qnrB2*, *su11* and *su12* and gene cassettes *aadA2*, *dfrA1* and *dfrA12*. The spread of the gene *bla<sub>CTX-M-15</sub>* at the University Hospital of Tlemcen was assigned to the epidemic clones of *K. pneumoniae* ST15 and ST931 and to genetic transit of plasmids among unrelated strains. The characterization of the *spacer* region between the *ISEcp1* and *bla<sub>CTX-M-15</sub>* allowed to individualize two types of populations. One that derived from the CTX-M-3 under algerian clinical context and one that is universally found.

For the strains of *A. baumannii*, sequencing allowed to identify the carbapenemase OXA-58 in 16 resistant strains to imipenem. The plasmid carrying the gene *bla<sub>OXA-58</sub>*, described in this study, was related to the rapid spread of carbapenem resistance in *A. baumannii* in the ICU of the University Hospital of Tlemcen.

**Keywords:** Enterobacteriaceae, *A. baumannii*, Resistance to antibiotics, Epidemiology.