

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences biologiques
Option : Biotechnologie Microbienne



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Etude du portage digestif des
souches de bacilles à Gram négatif
productrices de carbapénèmases
isolées aux CHU Khelil Amrane

Présenté par :

Melle BAOUCHE Meriem

Soutenu le : **11 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M. DJOUDI Ferhat

M. TOUATI Abdelaziz

Melle. TAFOUKT Ryma

MCB

Professeur

MAB

Président

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

Louanges à Allah le miséricordieux, le très miséricordieux, qui m'a aidé tout au long de ma vie, qu'il soit loué.

J'adresse mes vifs remerciements à mon encadreur Pr. TOUATI.A et mon copromoteur Dr. BAKOUR.S pour leurs disponibilités et orientation.

Un grand merci à M^{elle} ZAIDI Fatma zahra pour son aide incontournable et conseils qu'elle retrouve ici ma plus sincère reconnaissance .

Mes remerciements les plus sincères vont aux membres du jury pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie chaleureusement toute l'équipe médicale des deux services de la Neurochirurgie et de Réanimation qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mes chers parents , mon exemple éternel, mon soutien moral et Source de joie et de bonheur , pour m'avoir donnés la vie et la joie de vivre votre bonne éducation , vos conseils et votre bénédiction n'ont jamais fait défaut ,que Dieu le tout puissant vous accorde son paradis éternel (AMEN) .

A mes sœurs : Sabiha et Malika. A mon petit frère : Khaled .Pour votre soutient et encouragements, vous occupez une place particulière dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux, plein de bonheur et de succès.

A tous mes professeurs : Leurs générosités et leurs soutiens m'obligent de leurs témoigner mon profond respect et ma loyale considération

A tous mes amies : Taous ,Narimene, Warda, Fatima,Basma, Selia ,Sassa , Wafa, Hanane. En souvenir de nos éclats de rire et des bons moments. En souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble. J'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.

A mes chers cousins et cousines, oncles, tantes pour leurs soutiens et encouragement.

A tous ceux qui me sont chers de près et de loin Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	01
-------------------	----

Partie I : Matériel et méthodes

I- Isolement des souches.....	06
I-1.Prélèvement.....	06
I-2. Isolement.....	06
II-Identification.....	06
III -Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	07
III.1. Antibiogramme standard.....	07
III.2. Détermination des CMI par E-test.....	08
IV-Détection phénotypique de la production de carbapénémases.....	08
IV-1. Le carba NP test modifié.....	08
V- Test d'inhibition à l'EDTA.....	10

Partie II : résultats

I. Patients.....	11
II-Souches bactériennes.....	13
III.. Résistance des souches aux antibiotiques.....	13
IV. Tests phénotypiques.....	15
V. Taux de portage.....	16
Discussion et conclusion.....	17

Référence bibliographiques

Annexe

Liste des figures

Figure01 : Disposition des disques (EDTA-disque synergie test).....	10
Figure02 : Résultats de de la galerie API 20E de <i>Salmonella Sp</i>	12
Figure03 : Résultats de la CMI par une bandelette E test	13
Figure04 : Résultats de carba NP test.....	14
Figure04 : Image de test a l'EDTA positif pour la souche <i>Salmonella Sp</i>	15

Liste des tableaux

Tableau I : Antibiotiques testés.....	08
Tableau II . Interprétation des résultats du Carba NP test modifié	09
Tableau III : caractéristiques des patients prélever.....	11
Tableau IV : Résultats de la sensibilité aux antibiotiques	14

.

Introduction

Au cours des dernières décennies, la résistance des bactéries vis-à-vis des antibiotiques a été croissante, notamment en raison de la pression de sélection exercée par l'utilisation importante et parfois inadéquate des antibiotiques. Cette situation présente un problème majeur de santé publique, et préoccupante particulièrement en milieu hospitalier (Curcio et *al.*, 2014)

Les résistances multiples aux antibiotiques émergent actuellement dans le monde entier, tout particulièrement parmi les principales espèces de bacilles à Gram négatif comme les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* ...) (Spellberg et *al.*, 2011)

Ces entérobactéries sont particulièrement importantes pour l'Homme puisqu'elles sont responsables des infections microbiennes les plus fréquentes. Certaines espèces d'entérobactéries sont la source d'infections typiquement nosocomiales (*K. pneumoniae*), alors que d'autres sont responsable d'infections nosocomiales et communautaires (*E. coli*). Ce différentiel nosocomial /communautaire revêt une importance particulière car le contrôle des épidémies de souches multirésistantes communautaires est beaucoup plus difficile que leur contrôle en milieu hospitalier. Le problème de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries est dominé actuellement par celui de la résistance aux carbapénèmes (Nordmann et *al.*, 2012).

Les β -lactamines représentent la principale famille d'antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans le monde. Cette large utilisation est due à leur large spectre d'action, et à leur faible toxicité (Handal et *al.*, 2000). La base commune à toutes les bêta-lactamines est le noyau azétidinone qui contient la structure carbonyle lactame la quelle est indispensable pour l'activité des molécules. À partir de cette structure, quatre groupes ont été développées par adjonction d'un cycle : les pénames, les céphèmes, les pénèmes ou par substitution, les monobactames. Les inhibiteurs des β -lactamases appartiennent également à cette famille (Bryskier., 1999).

Les carbapénèmes sont les molécules développées les plus avancées au sein de la famille des bêtalactamines, possédant un spectre d'activité le plus large. Les molécules de cette famille d'antibiotiques commercialisées sont l'imipénème, le méropénème, l'ertapénème et le doripénème. Les carbapénèmes sont limités à un usage hospitalier et prescrits en grande majorité dans le cadre du traitement d'infections nosocomiales. Leur excellente activité antibiotique est liée à la rapidité avec laquelle ils pénètrent la membrane externe et à leur stabilité vis-à-vis de la plupart des β -lactamases naturelles ou acquises (Poirel et *al.*,2013)

L'utilisation des β -lactamines en thérapeutique a été suivie par l'émergence de souches résistantes. Les β -lactamases constituent le principal mécanisme de la résistance à ces molécules, en particulier chez les bactéries à Gram négatif en hydrolysant la liaison amide du cycle β -lactame (Philippon et *al.*, 2006).

Une classification proposée par Ambler en 1980 permet de grouper les β -lactamases en quatre classes en fonction de leurs homologies structurales: (1) β -lactamases de classe A, ou pénicillinases, elles hydrolysent préférentiellement les pénicillines (amoxicilline, ticarcilline, pipéracilline) et sont inhibées par les inhibiteurs comme l'acide clavulanique ; (2) β -lactamases de classe B, ou métallo- β -lactamases, hydrolysant toutes les β -lactamines sauf l'aztréonam et sont inhibées par l'EDTA et non inhibées par l'acide clavulanique ; (3) β -lactamases de classe C, ou céphalosporinases, elles hydrolysent préférentiellement les céphalosporines (céfalotine, ceftazidime, céfuroxime) et ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique; et (4) β -lactamases de classe D, ou oxacillinases, elles sont caractérisées par une hydrolyse plus rapide de l'oxacilline et de la cloxacilline et sont peu inhibées par l'acide clavulanique(Ambler et *al.*,1980)

Une émergence de la résistance aux carbapénèmes est actuellement observée ; elle est liée principalement à 2 mécanismes (Nordmann et *al.*.,2012)

Le premier associe la production à haut niveau d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou bien d'une bêtalactamase à spectre élargi

(BLSE) à une diminution de la perméabilité membranaire de la souche bactérienne, cette combinaison affectant finalement de façon importante la concentration minimale inhibitrice (CMI) et conduisant à la résistance. Le second mécanisme est directement lié à l'expression de bêtalactamases particulières hydrolysant de manière très significative les carbapénèmes, ces enzymes étant de ce fait appelées "carbapénémases" (Poirel et *al.*, 2013). Les carbapénémases sont des β -lactamases ayant une activité hydrolytique vis à vis des carbapénèmes. Ces enzymes appartiennent à trois classes selon la classification d'Ambler (Nordmann., et al 2010)

- La classe A correspond principalement aux enzymes de type KPC, IMI et GES. Elles ont la particularité de voir leur activité *in vitro* totalement ou partiellement inhibée par l'acide boronique et l'acide clavulanique. Elles hydrolysent toutes les β -lactamines. (Boutet-dubois et *al.*, 2012).

La classe B correspond aux métallo- β -lactamases de type VIM, IMP et NDM. Ces enzymes hydrolysent très fortement toutes les β -lactamines à l'exception de l'aztréonam. Leur activité *in vitro* n'est pas affectée par les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique et tazobactam). Ce sont des métallo-enzymes qui contiennent un ion zinc dans leur site actif expliquant l'inhibition de leur activité par l'EDTA (chélateur des cations divalents) ou l'acide dipicolinique. (Boutet-dubois et *al.*, 2012).

La classe D correspond essentiellement aux enzymes de type oxacillinases (OXA-48, OXA-163, OXA-181). Ces enzymes hydrolysent fortement les carbapénèmes mais pas ou peu les céphalosporines de 3ème génération. Elles sont résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases (Boutet-dubois et *al.*, 2012).

L'émergence de la résistance aux carbapénèmes par production de carbapénémase représente une étape supplémentaire vers la pan résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries (Poirel et *al.*, 2007) et . Ce mécanisme fut largement décrit chez *Enterobacter* sp. La nouveauté résulte ici de l'identification de différentes carbapénémases, tout particulièrement chez *K. pneumoniae*. De nombreuses épidémies de souches d'entérobactéries productrices de

carbapénémases ont été rapportées dans le monde entier et en Europe, tout particulièrement dans le Sud du continent (Italie, Espagne, Grèce) (Nordman et al.,2009). La résistance aux carbapénèmes est variable, toujours plus marquée chez *Enterobacter* et *Klebsiella* que chez *E. coli* ou *Proteus mirabilis*. À l'origine décrites aux États-Unis. Les souches KPC ont été décrites tout d'abord sur la côte Est des États-Unis puis, en Grèce, en Amérique Centrale et Amérique du Sud, épisodiquement dans de nombreux pays d'Europe (France, Suède, Belgique, etc.) (Nordman et al.,2009). Actuellement, ces souches de *K. pneumoniae* sont considérées comme endémiques sur la côte Nord Est des États-Unis, en Grèce et en Israël où il semble que leur rapide dissémination dans le système de soins hospitalier est difficilement contenue. Les bêtalactamases de type OXA-48, décrites tout d'abord chez *K. Pneumoniae* en Turquie puis chez *E. coli* (Poirel et al.,2004) et (Carré et al.,2008) ont été identifiées comme étant à l'origine de multiples foyers épidémiques d'infections nosocomiales dans les hôpitaux d'Istanbul et d'Ankara . La détection de ces souches exprimant OXA-48 (en l'absence de BLSE) est donc particulièrement difficile, basée sur une discrète réduction de sensibilité aux carbapénèmes. Les EPC produisant cette enzyme sont prédominantes en France (InVs.,2014)

Parmi les MBL, les enzymes du type NDM sont émergentes et ont été rapportées un peu partout dans le monde (Schwaber et al.,2008) Un des réservoirs avérés des souches productrices de NDM est constitué par le sous-continent indien (Inde, Pakistan, Bangladesh), mais on les trouve également très vraisemblablement dans certains pays des Balkans, du Moyen-Orient et possiblement d'Afrique du Nord (où les souches d'*Acinetobacter baumannii* NDM positives sont très répandues). Les premiers cas de souches produisant des enzymes du type NDM ont été rapportés en 2009(Poirel et al.,2013)

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 dont les *Salmonella*, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter baumannii* (Baba Ahmed et *al.*, 2014). Les premières souches productrices d'NDM-1 ont été identifiées en novembre 2012 (Bakour et *al.*, 2015)

Ce travail a été réalisé à fin d'étudier le portage fécal des souches de bacilles à Gram négatif productrices de carbapénémases isolées au niveau des services de réanimation et neurochirurgie au sien de CHU de Bejaia. Le test de sensibilité à l'imipénème a été réalisé selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé et confirmé par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode des bandelettes Etest. A fin de détecter la production de carbapénémase, des tests phénotypiques ont été réalisés tels que le Carba NP test modifié, et le test à l'EDTA.

Résultats

Matériel
et
Méthodes

I-Isolement des souches

I-1.Prélèvement :

Durant la période de notre étude du (23-03-2015 / 23-04-2015) des prélèvements de coproculture par écouvillonnage rectal ont été effectués au sein du CHU de BEJAIA, KHELIL AMRANE, au niveau du service de la neurochirurgie et de réanimation, un seul prélèvement a été réalisé par patient, les informations suivantes ont été recueillies : nom et prénom, âge, sexe, date d'entrée au service et date du prélèvement.

Les prélèvements recueillis ont été transportés immédiatement dans une glacière, et traité dans un délai de deux heures au maximum au niveau du laboratoire de l'écologie microbienne de l'université de Bejaïa.

I-2 Isolement :

L'écouvillon est introduit directement dans un bouillon nutritif additionné d'imipenème (1µg/ml) .Après incubation à 37C° pendant 24 heures, on ensemence à partir de ce bouillon une gélose Mac Conkey contenant de l'imipenème à (1µg/ml) et de la Vancomycine à (4ug/ml)

Après incubation, on examine l'aspect des colonies ayant poussé sur la gélose Mac Conkey, une à trois colonies ont été prélevées et réisolées sur le même milieu.

II-Identification

L'identification des souches est réalisée par l'utilisation d'une galerie API20E (BioMérieux) .Les étapes de l'ensemencement sont suivante :

- A partir d'une culture pure, on prépare une suspension bactérienne dans 5ml d'eau physiologique
- On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5ml d'eau distillé dans les alvéoles pour éviter que le milieu ne dessèche, puis on place la galerie dans la boîte d'incubation.
- On remplit les microtubes avec de la suspension bactérienne, pour les tests CIT, VPET GEL on remplit en plus des microtubes les cupules.
- De la vaseline est ajoutée aux tests ADH, LCD ,H₂S,et URE.

- On remet le couvercle de la boîte d'incubation et on incube à 37° pendant 18 à 24 heures.
- La lecture de la galerie peut se faire si trois tests sont positifs. on note sur la fiche des résultats toutes les réactions spontanées puis on ajoute les réactifs aux tests de TDA, VP, et indole. S'il y a moins de trois tests positifs, la période d'incubation est prolongée jusqu'à 48 heures.
- On note aussi sur la fiche le 21^{ème} test qui est l'oxydase.
- Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupe de trois. on additionnant les chiffres de chaque groupe on obtient 7 chiffres qui constitue un code, lorsque le 21^{ème} test est positif on lui attribue le chiffre 4.
- L'identification est obtenue en introduisant le code dans un logiciel d'identification Apident.

III-Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques :

III.1 Antibiogramme standard

La sensibilité aux antibiotiques des souches de bacilles à Gram négatif isolées a été déterminée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations de EUCAST., 2015

Les antibiotiques testés sont donnés dans le tableau

Tableau I : Antibiotiques testés.

Antibiotiques	Abréviations	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques	
			« R »	« S »
Céfépime	FEP	30	≤21	≥24
Céfoxitine	FOX	30	≤15	≥19
Céftazidime	CAZ	30	≤21	≥25
Ertapénème	ERT	30	≤26	≥28
Imipénème	IMP	10	≤17	≥24
Méropénème	MER	30	≤15	≥22
Acide nalidixique	NAL	30	≤14	≥19
Triméthoprimé- sulfaméthoxazole	SXT	30	≤13	≥16
Gentamicine	GMI	30	≤14	≥17

III.2.Détermination des CMI par E-test

Pour déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) une bandelette E-test d'Imipenème a été déposée sur une gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée par écouvillonnage. après incubation pendant 24h à 37°C. La CMI se lit sur la bandelette E-test à l'endroit où la croissance des bactéries s'arrête.

IV-Détection phénotypique de la production de carbapénémases

IV-1. Le carba NP test modifié

Pour identifier la production de carbapénémases chez les souches isolées le carba NP test modifié a été réalisé comme suit:

Réactifs

- Imipénème (Poudre pour solution injectable IV).
- Tampon de lyse: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB).
- Rouge de Phénol en poudre.
- ZnSO₄, 7 H₂O en poudre

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

1. Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume.
2. Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
3. Ajouter au mélange 180µl d'une solution de ZnSO₄ 10mM.
4. Ajuster le pH à 7 avec une solution de NaOH (1N).

Pour détecter la production d'une carbapénèmase, on procède comme suit :

1. Dans un tube Eppendorf, mettre 200µl de tampon de lyse (CTAB 0.02 %).
2. Suspendre une öse calibrée (10µl) de colonies bactériennes dans le tampon de lyse et vortexer 1 à 2 min.
3. Transférer 100µl dans 2 tubes Eppendorf "A" et "B".
4. Ajouter 100µl de Solution A dans le tube Eppendorf "A" et 100µl de la Solution A+imipénème 6mg/ml dans le tube Eppendorf "B".
5. Vortexer 5 sec puis incubé à 37°C pendant un maximum de 2h.

La lecture visuelle est effectuée dans chaque tube Eppendorf et les résultats sont interprétés selon le tableau ci-dessous. (Bakour et *al.* ,2015)

Tableau II. Interprétation des résultats du Carba NP test modifié.

Tube A	Tube B	Interprétation
Rouge	Rouge	Pas de production de carbapénèmase
Rouge	Orange/Jaune	Production de carbapénèmase
Jaune	Jaune	Non interprétable

V- Test d'inhibition à l'EDTA

Le test de l'EDTA-disque synergie est réalisé en utilisant un disque d'imipenème (10 μ g) et un disque vierge imbibé avec 10 μ l de la solution d'EDTA (1500 μ g d'EDTA) distant de 15mm (bord à bord) (Figure 1). Après 16 à 18 h d'incubation à 37 °C, la présence d'une M β L est détectée par la visualisation d'une image de synergie entre le disque d'imipenème et celui d'EDTA (Jeong et *al.*, 2006).

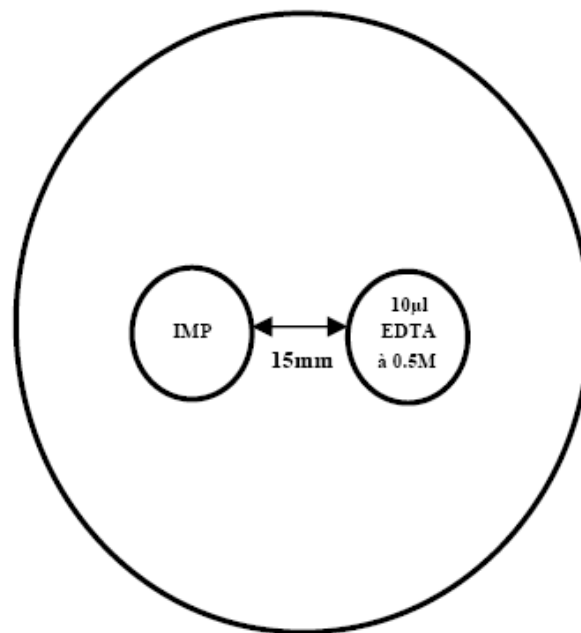


Figure 1. Disposition des disques (EDTA-disque synergie test)

I. Patients :

Durant cette étude, 40 prélèvements ont été effectués sur des patients hospitalisés au sein de deux services : réanimation et neurochirurgie du CHU Khelil Amrane de Béjaia. Les informations correspondantes à ces patients sont représentées dans le tableau III :

Tableau III: caractéristiques des patients prélevés

Code	Age	Sexe	Service	Date d'admission	Date de prélèvement	Délais
1	39ans	F	Neuro	22/03/2015	23/03/2015	Un jour
2	43ans	F	Neuro	09/03/2015	23/03/2015	16jours
3	58ans	F	Neuro	16/03/2015	23/03/2015	7jours
5	6ans	M	Neuro	12/03/2015	23/03/2015	11jours
6	3mois	M	Neuro	19/03/2015	23/03/2015	4jours
7	47ans	F	Neuro	15/03/2015	23/03/2015	8jours
8	67ans	F	Neuro	22/03/2015	24/03/2015	2jours
9	33ans	M	Neuro	12/03/2015	24/03/2015	12 jours
10	25ans	M	Neuro	20/03/2015	24/03/2015	4jours
11	85ans	M	Neuro	21/03/2015	24/03/2015	3jours
12	31ans	M	Neuro	23/03/2015	24/03/2015	Un jour
13	35ans	M	Neuro	23/03/2015	25/03/2015	2jours
14	2ans	M	Neuro	28/03/2015	30/03/2015	2jours
15	31ans	F	Neuro	23/03/2015	30/03/2015	7jours
16	25ans	M	Neuro	20/03/2015	30/03/2015	10jours
17	2ans	M	Neuro	25/03/2015	30/03/2015	5jours
19	87ans	F	Neuro	2015	30/03/2015	Un jour
20	25ans	M	Neuro	28/03/2015	30/03/2015	2jours
21	48ans	M	Neuro	29/03/2015	30/03/2015	Un jour
22	26ans	M	Neuro	29/03/2015	30/03/2015	Un jour
24	1ans	M	Neuro	27/03/2015	30/03/2015	3jours
25	23ans	M	Neuro	29/03/2015	31/03/2015	2 jours
26	31ans	M	Neuro	29/03/2015	31/03/2015	2jours
27	5ans	M	Neuro	02/04/2015	05/04/2015	3jours
28	13jours	M	Neuro	01/04/2015	05/04/2015	4jours
29	23ans	M	Neuro	03/04/2015	06/04/2015	3jours
30	4mois	M	Neuro	05/04/2015	06/04/2015	Un jour

31	25ans	M	Neuro	05 /04/2015	06/04/2015	Un jour
32	23ans	M	Neuro	30/03/2015	06/04/2015	7jours
6	31ans	M	Réa	05/04/2015	06/04/2015	2 jours
4	64ans	F	Réa	05/04/2015	06/04/2015	Un mois
5	63ans	M	Réa	05/04/2015	06/04/2015	Un jour
34	21mois	M	Neuro	15/04/2015	20/04/2015	5jours
35	19mois	M	Neuro	15/04/2015	20/04/2015	5jours
38	25ans	F	Neuro	17/04/2015	22/04/2015	5jours
33	52ans	M	Neuro	07/04/2015	20/04/2015	13jours
39	23ans	F	Neuro	22/04/2015	23/04/2015	Un jour
40	39ans	F	Neuro	20/04/2015	23/04/2015	3jours
41	3ans	M	Neuro	22/04/2015	23/04/2015	Un jour
42	4ans	M	Neuro	21/04/2015	23/04/2015	2jours

37 patients ont été prélevés au niveau du service de neurochirurgie contre trois patients au niveau du service de réanimation. L'âge moyen des patients est de 29 ans. Ses patient sont répartie comme suite 70% sont des adultes 20% des nourrissons et 10% des enfants

Les sujets de sexe masculin représentent 72.5% des cas contre 27.5% pour le sexe féminin.

II-Souches bactériennes

Sur les 40 prélèvements effectués, nous avons isolé 7 souches de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes. L'identification des souches par galeries API 20E (figure2) a montré que les souches identifiées sont par ordre de fréquence *E .coli* (n= 2), *Serratia fonticola* (n=2), *Pseudomonas Sp* (n=2) et *Salmonella Sp* (n=1).



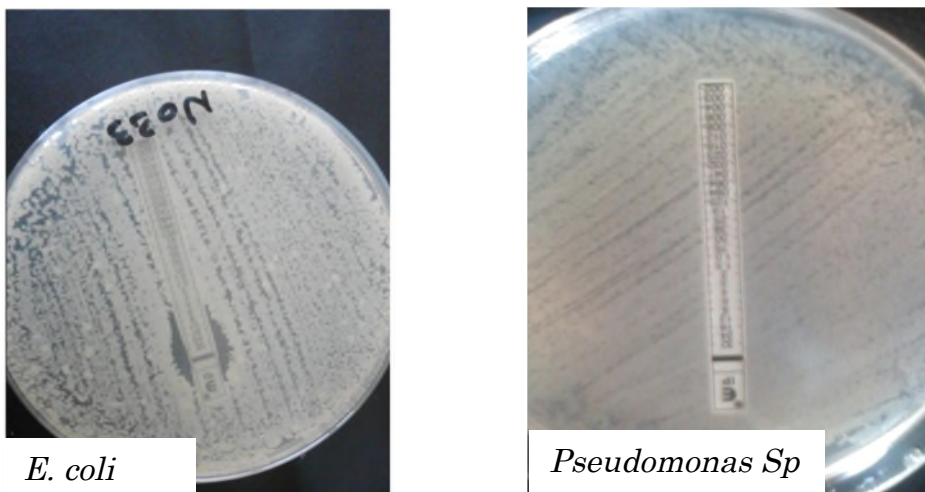
Figure 2 : résultats de de la galerie API 20E de la souche de *Salmonella Sp*

Le test d'oxydase est négatif pour toutes les souches

III. Résistance des souches aux antibiotiques

Les résultats de la sensibilité des sept souches aux antibiotiques sont donnés dans le tableau II. On note que toutes les souches sont résistantes à toutes les bêta-lactamines, y compris les carbapénèmes. Concernant les autres familles d'antibiotiques on note une résistance de 42.85% pour la *Gentamicine* et de 28.57% pour la *Trimethoprim-Sulfamethoxazole* et *Acide nalidixique*.

La CMI des souches à l'imipénème sont respectivement de 32µg/ml pour les souches *E coli*, *Serratia fonticola*, *Pseudomonas Sp* et *Salmonella Sp*), et de 06µg/ml pour la souche *E. coli* Figures3



Figures 3 : résultats de la CMI par une bandelette E test

Résultats

Tableau IV : Résultats de la sensibilité aux antibiotiques

Espèce	Code	Antibiotiques									CMI
		FEP	FOX	CAZ	ERT	IMP	MER	GMI	NA	SXT	
<i>Serratia fonticola</i>	N030	6(R)	6(R)	14(R)	6(R)	6(R)	6(R)	≥30(s)	≥30(s)	≥30(s)	≥32
<i>Serratia fonticola</i>	N031	6(R)	6(R)	16(R)	6(R)	6(R)	6(R)	≥30(s)	≥30(s)	≥30(s)	≥32
<i>E coli</i>	N032	6(R)	6(R)	18(R)	6(R)	7(R)	6(R)	≥30(s)	≥30(s)	≥30(s)	≥32
<i>E coli</i>	N033	6(R)	8(R)	6(R)	7(R)	15(R)	11(R)	18(R)	≥30(s)	≥30(s)	6
<i>Pseudomonas Sp</i>	R04	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	11(R)	9(R)	6(R)	6(R)	16(R)	≥32
<i>Salmonella Sp</i>	R05	6(R)	6(R)	15(R)	6(R)	6(R)	6(R)	≥30(s)	≥30(s)	≥30(s)	≥32
<i>Pseudomonas Sp</i>	R06	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	15(R)	11(R)	6(R)	6(R)	17(R)	≥32

III. Tests phénotypiques

Le carba NP est positif pour toutes les souches résistantes (figure4) dont 04 ont été inhibées par l'EDTA (figure5)

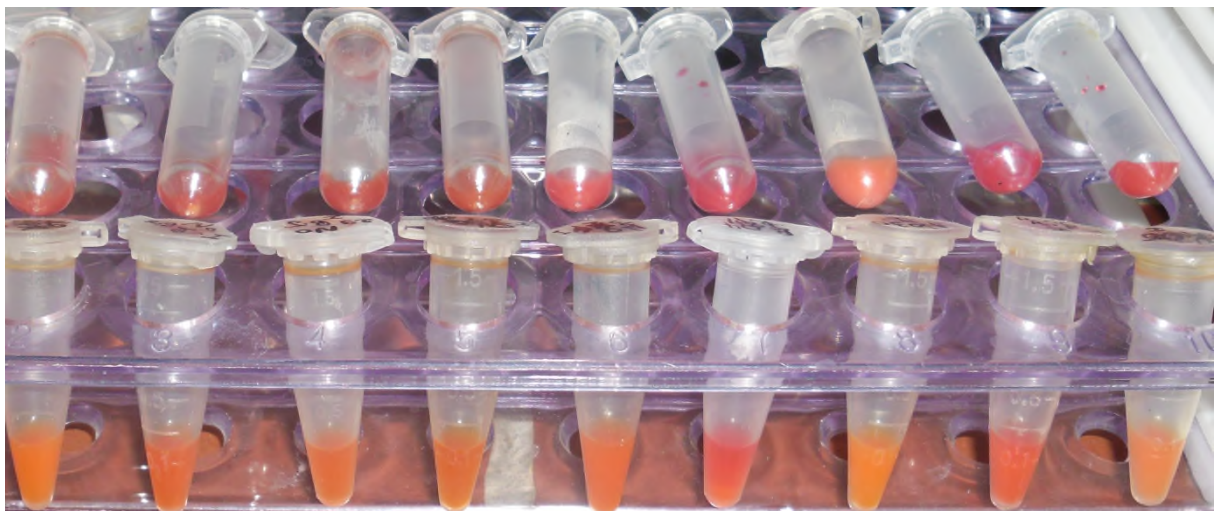


Figure 4 : résultats de carba NP test

Résultats

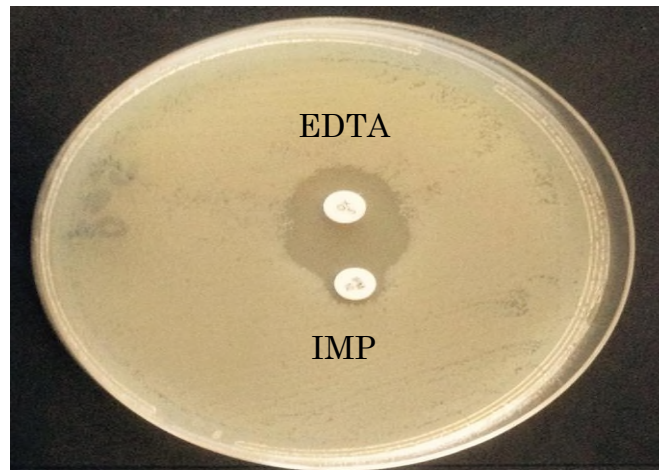


Figure 5 : Image de test à l'EDTA positif pour la souche *Salmonella Sp*

IV. Taux de portage

- On note un taux de portage de 17.5% dont 20.7% chez les patients du sexe masculin contre 9.1% chez les patients du sexe féminin.
- Les trois patients hospitalisés au niveau du service de la réanimation étaient tous porteurs, un taux de 10.81% a été observé dans le service de neurochirurgie
- Six souches ont été isolées chez des patients adultes avec un taux de 21.42% et une souche résistante a été isolée chez les nourrissons avec un taux de 12.5% et aucune chez les enfants.

Résultats

I-Isolement des souches

I-1.Prélèvement :

Durant la période de notre étude du (23-03-2015 / 23-04-2015) des prélèvements de coproculture par écouvillonnage rectal ont été effectués au sein du CHU de BEJAIA, KHELIL AMRANE, au niveau du service de la neurochirurgie et de réanimation, un seul prélèvement a été réalisé par patient, les informations suivantes ont été recueillies : nom et prénom, âge, sexe, date d'entrée au service et date du prélèvement.

Les prélèvements recueillis ont été transportés immédiatement dans une glacière, et traité dans un délai de deux heures au maximum au niveau du laboratoire de l'écologie microbienne de l'université de Bejaïa.

I-2 Isolement :

L'écouvillon est introduit directement dans un bouillon nutritif additionné d'imipenème (1µg/ml) .Après incubation à 37C° pendant 24 heures, on ensemence à partir de ce bouillon une gélose Mac Conkey contenant de l'imipenème à (1µg/ml) et de la Vancomycine à (4ug/ml)

Après incubation, on examine l'aspect des colonies ayant poussé sur la gélose Mac Conkey, une à trois colonies ont été prélevées et réisolées sur le même milieu.

II-Identification

L'identification des souches est réalisée par l'utilisation d'une galerie API20E (BioMérieux) .Les étapes de l'ensemencement sont suivante :

- A partir d'une culture pure, on prépare une suspension bactérienne dans 5ml d'eau physiologique
- On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5ml d'eau distillé dans les alvéoles pour éviter que le milieu ne dessèche, puis on place la galerie dans la boîte d'incubation.
- On remplit les microtubes avec de la suspension bactérienne, pour les tests CIT, VPET GEL on remplit en plus des microtubes les cupules.
- De la vaseline est ajoutée aux tests ADH, LCD ,H₂S,et URE.

- On remet le couvercle de la boîte d'incubation et on incube à 37° pendant 18 à 24 heures.
- La lecture de la galerie peut se faire si trois tests sont positifs. on note sur la fiche des résultats toutes les réactions spontanées puis on ajoute les réactifs aux tests de TDA, VP, et indole. S'il y a moins de trois tests positifs, la période d'incubation est prolongée jusqu'à 48 heures.
- On note aussi sur la fiche le 21^{ème} test qui est l'oxydase.
- Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupe de trois. on additionnant les chiffres de chaque groupe on obtient 7 chiffres qui constitue un code, lorsque le 21^{ème} test est positif on lui attribue le chiffre 4.
- L'identification est obtenue en introduisant le code dans un logiciel d'identification Apident.

III-Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques :

III.1 Antibiogramme standard

La sensibilité aux antibiotiques des souches de bacilles à Gram négatif isolées a été déterminée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations de EUCAST., 2015

Les antibiotiques testés sont donnés dans le tableau

Tableau I : Antibiotiques testés.

Antibiotiques	Abréviations	Charge du disque (μg)	Diamètres critiques	
			« R »	« S »
Céfépime	FEP	30	≤ 21	≥ 24
Céfoxitine	FOX	30	≤ 15	≥ 19
Céftazidime	CAZ	30	≤ 21	≥ 25
Ertapénème	ERT	30	≤ 26	≥ 28
Imipénème	IMP	10	≤ 17	≥ 24
Méropénème	MER	30	≤ 15	≥ 22
Acide nalidixique	NAL	30	≤ 14	≥ 19
Triméthoprim- sulfaméthoxazole	SXT	30	≤ 13	≥ 16
Gentamicine	GMI	30	≤ 14	≥ 17

III.2.Détermination des CMI par E-test

Pour déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) une bandelette E-test d'Imipenème a été déposée sur une gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée par écouvillonnage. après incubation pendant 24h à 37°C. La CMI se lit sur la bandelette E-test à l'endroit où la croissance des bactéries s'arrête.

IV-Détection phénotypique de la production de carbapénémases

IV-1. Le carba NP test modifié

Pour identifier la production de carbapénémases chez les souches isolées le carba NP test modifié a été réalisé comme suit:

Réactifs

- Imipénème (Poudre pour solution injectable IV).
- Tampon de lyse: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB).
- Rouge de Phénol en poudre.
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ en poudre

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

1. Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume.
2. Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
3. Ajouter au mélange 180µl d'une solution de ZnSO₄ 10mM.
4. Ajuster le pH à 7 avec une solution de NaOH (1N).

Pour détecter la production d'une carbapénèmase, on procède comme suit :

1. Dans un tube Eppendorf, mettre 200µl de tampon de lyse (CTAB 0.02 %).
2. Suspending une öse calibrée (10µl) de colonies bactériennes dans le tampon de lyse et vortexer 1 à 2 min.
3. Transférer 100µl dans 2 tubes Eppendorf "A" et "B".
4. Ajouter 100µl de Solution A dans le tube Eppendorf "A" et 100µl de la Solution A+imipénème 6mg/ml dans le tube Eppendorf "B".
5. Vortexer 5 sec puis incuber à 37°C pendant un maximum de 2h.

La lecture visuelle est effectuée dans chaque tube Eppendorf et les résultats sont Interprétés selon le tableau ci-dessous. (Bakour et *al.* ,2015)

Tableau II. Interprétation des résultats du Carba NP test modifié.

Tube A	Tube B	Interprétation
Rouge	Rouge	Pas de production de carbapénèmase
Rouge	Orange/Jaune	Production de carbapénèmase
Jaune	Jaune	Non interprétable

V- Test d'inhibition à l'EDTA

Le test de l'EDTA-disque synergie est réalisé en utilisant un disque d'imipénème (10 μ g) et un disque vierge imbibé avec 10 μ l de la solution d'EDTA (1500 μ g d'EDTA) distant de 15mm (bord à bord) (Figure 1). Après 16 à 18 h d'incubation à 37 °C, la présence d'une M β L est détectée par la visualisation d'une image de synergie entre le disque d'imipénème et celui d'EDTA (Jeong et *al.*, 2006).

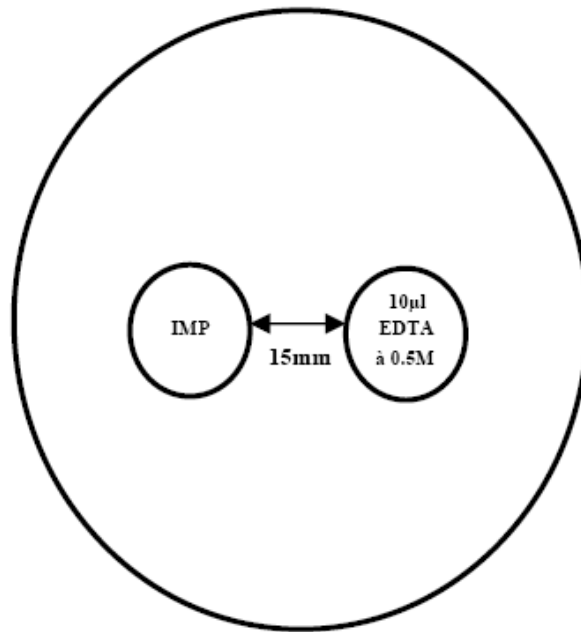


Figure 1. Disposition des disques (EDTA-disque synergie test)

I. Patients :

Durant cette étude, 40 prélèvements ont été effectués sur des patients hospitalisés au sein de deux services : réanimation et neurochirurgie du CHU Khelil Amrane de Béjaia. Les informations correspondantes à ces patients sont représentées dans le tableau III :

Tableau III: caractéristiques des patients prélevés

Code	Age	Sexe	Service	Date d'admission	Date de prélèvement	Délais
1	39ans	F	Neuro	22/03/2015	23/03/2015	Un jour
2	43ans	F	Neuro	09/03/2015	23/03/2015	16jours
3	58ans	F	Neuro	16/03/2015	23/03/2015	7jours
5	6ans	M	Neuro	12/03/2015	23/03/2015	11jours
6	3mois	M	Neuro	19/03/2015	23/03/2015	4jours
7	47ans	F	Neuro	15/03/2015	23/03/2015	8jours
8	67ans	F	Neuro	22/03/2015	24/03/2015	2jours
9	33ans	M	Neuro	12/03/2015	24/03/2015	12 jours
10	25ans	M	Neuro	20/03/2015	24/03/2015	4jours
11	85ans	M	Neuro	21/03/2015	24/03/2015	3jours
12	31ans	M	Neuro	23/03/2015	24/03/2015	Un jour
13	35ans	M	Neuro	23/03/2015	25/03/2015	2jours
14	2ans	M	Neuro	28/03/2015	30/03/2015	2jours
15	31ans	F	Neuro	23/03/2015	30/03/2015	7jours
16	25ans	M	Neuro	20/03/2015	30/03/2015	10jours
17	2ans	M	Neuro	25/03/2015	30/03/2015	5jours
19	87ans	F	Neuro	2015	30/03/2015	Un jour
20	25ans	M	Neuro	28/03/2015	30/03/2015	2jours
21	48ans	M	Neuro	29/03/2015	30/03/2015	Un jour
22	26ans	M	Neuro	29/03/2015	30/03/2015	Un jour
24	1ans	M	Neuro	27/03/2015	30/03/2015	3jours
25	23ans	M	Neuro	29/03/2015	31/03/2015	2 jours
26	31ans	M	Neuro	29/03/2015	31/03/2015	2jours
27	5ans	M	Neuro	02/04/2015	05/04/2015	3jours
28	13jours	M	Neuro	01/04/2015	05/04/2015	4jours
29	23ans	M	Neuro	03/04/2015	06/04/2015	3jours
30	4mois	M	Neuro	05/04/2015	06/04/2015	Un jour

31	25ans	M	Neuro	05 /04/2015	06/04/2015	Un jour
32	23ans	M	Neuro	30/03/2015	06/04/2015	7jours
6	31ans	M	Réa	05/04/2015	06/04/2015	2 jours
4	64ans	F	Réa	05/04/2015	06/04/2015	Un mois
5	63ans	M	Réa	05/04/2015	06/04/2015	Un jour
34	21mois	M	Neuro	15/04/2015	20/04/2015	5jours
35	19mois	M	Neuro	15/04/2015	20/04/2015	5jours
38	25ans	F	Neuro	17/04/2015	22/04/2015	5jours
33	52ans	M	Neuro	07/04/2015	20/04/2015	13jours
39	23ans	F	Neuro	22/04/2015	23/04/2015	Un jour
40	39ans	F	Neuro	20/04/2015	23/04/2015	3jours
41	3ans	M	Neuro	22/04/2015	23/04/2015	Un jour
42	4ans	M	Neuro	21/04/2015	23/04/2015	2jours

37 patients ont été prélevés au niveau du service de neurochirurgie contre trois patients au niveau du service de réanimation. L'âge moyen des patients est de 29 ans. Ses patient sont répartie comme suite 70% sont des adultes 20% des nourrissons et 10% des enfants

Les sujets de sexe masculin représentent 72.5% des cas contre 27.5% pour le sexe féminin.

II-Souches bactériennes

Sur les 40 prélèvements effectués, nous avons isolé 7 souches de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes. L'identification des souches par galeries API 20E (figure2) a montré que les souches identifiées sont par ordre de fréquence *E .coli* (n= 2), *Serratia fonticola* (n=2), *Pseudomonas Sp* (n=2) et *Salmonella Sp* (n=1).



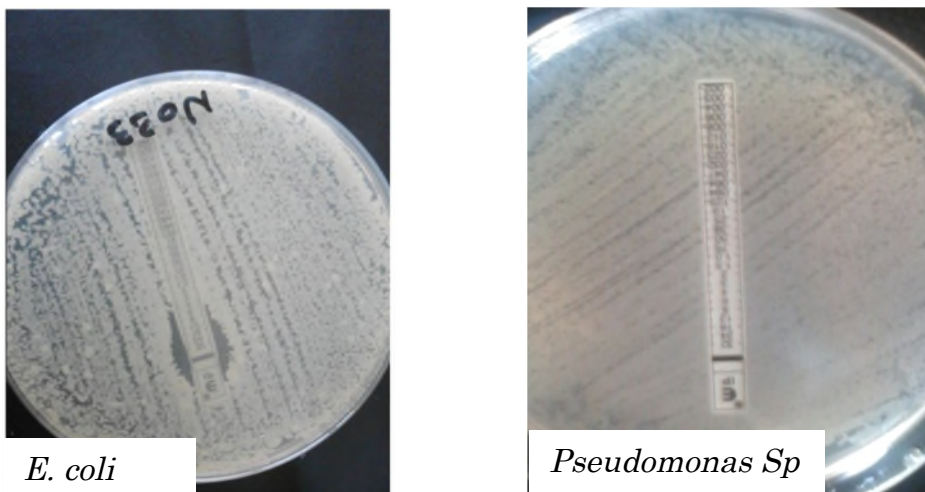
Figure 2 : résultats de de la galerie API 20E de la souche de *Salmonella Sp*

Le test d'oxydase est négatif pour toutes les souches

III. Résistance des souches aux antibiotiques

Les résultats de la sensibilité des sept souches aux antibiotiques sont donnés dans le tableau II. On note que toutes les souches sont résistantes à toutes les bêta-lactamines, y compris les carbapénèmes. Concernant les autres familles d'antibiotiques on note une résistance de 42.85% pour la *Gentamicine* et de 28.57% pour la *Trimethoprim-Sulfamethoxazole* et *Acide nalidixique*.

La CMI des souches à l'imipénème sont respectivement de 32µg/ml pour les souches *E coli*, *Serratia fonticola*, *Pseudomonas Sp* et *Salmonella Sp*), et de 06µg/ml pour la souche *E. coli* Figures3



Figures 3 : résultats de la CMI par une bandelette E test

Tableau IV : Résultats de la sensibilité aux antibiotiques

Espèce	Code	Antibiotiques									CMI
		FEP	FOX	CAZ	ERT	IMP	MER	GMI	NA	SXT	
<i>Serratia fonticola</i>	N030	6(R)	6(R)	14(R)	6(R)	6(R)	6(R)	≥30(s)	≥30(s)	≥30(s)	≥32
<i>Serratia fonticola</i>	N031	6(R)	6(R)	16(R)	6(R)	6(R)	6(R)	≥30(s)	≥30(s)	≥30(s)	≥32
<i>E coli</i>	N032	6(R)	6(R)	18(R)	6(R)	7(R)	6(R)	≥30(s)	≥30(s)	≥30(s)	≥32
<i>E coli</i>	N033	6(R)	8(R)	6(R)	7(R)	15(R)	11(R)	18(R)	≥30(s)	≥30(s)	6
<i>Pseudomonas Sp</i>	R04	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	11(R)	9(R)	6(R)	6(R)	16(R)	≥32
<i>Salmonella Sp</i>	R05	6(R)	6(R)	15(R)	6(R)	6(R)	6(R)	≥30(s)	≥30(s)	≥30(s)	≥32
<i>Pseudomonas Sp</i>	R06	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	15(R)	11(R)	6(R)	6(R)	17(R)	≥32

III. Tests phénotypiques

Le carba NP est positif pour toutes les souches résistantes (figure4) dont 04 ont été inhibées par l'EDTA (figure5)

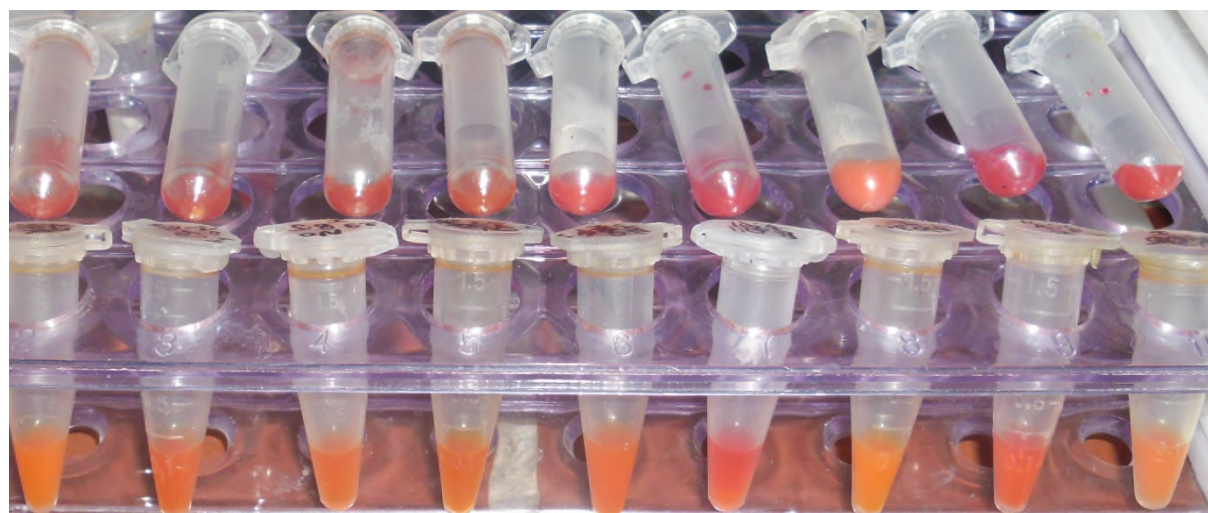


Figure 4 : résultats de carba NP test

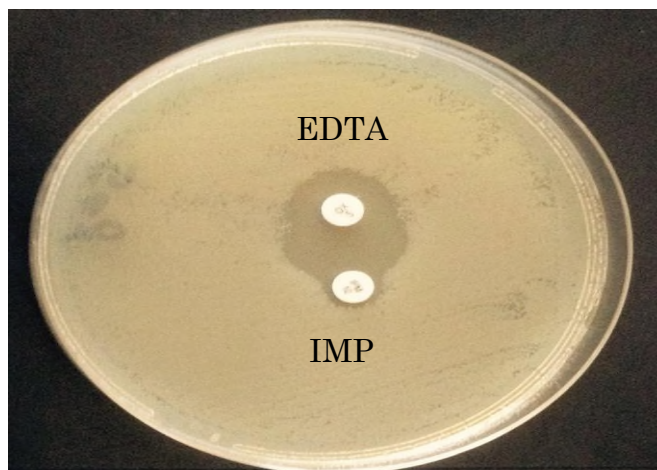


Figure 5 : Image de test a l 'EDTA positif pour la souche *Salmonella Sp*

IV. Taux de portage

- On note un taux de portage de 17.5% dont 20.7%chez les patients du sexe masculin contre 9.1% chez les patients du sexe féminin.
- Les trois patients hospitalisés au niveau du service de la réanimation étaient tous porteurs, un taux de 10.81% a été observé dans le service la neurochirurgie
- Six souches ont été isolées chez des patients adultes avec un taux de 21.42% et une souche résistante a été isolée chez les nourrissons avec un taux de 12.5% et aucune chez les enfants.

Discussion
et
Conclusion

Au sein de cette famille d'antibiotique, la résistance aux carbapénèmes est d'incidence croissante alors que ces molécules étaient considérées il y a encore peu de temps les plus actives pour le traitement des infections. Devant cette situation, il est indispensable d'être capable d'identifier le plus rapidement que possible ces souches résistantes aux carbapénèmes à fin d'adapter au mieux la thérapeutique chez les patients infectés et de limiter leur diffusion en milieu hospitalier, particulièrement dans les unités de soins intensives (Kempf et *al.*, 2012 et Dortet et *al.*, 2014)

Nous avons utilisé une technique biochimique « Modified Carba NP test (MCNP)» qui nous a permis la détection rapide des carbapénémases chez les bactéries à Gram négatif en utilisant un protocole simple après avoir apporté des modifications sur des protocoles déjà publiés (Nordmann et *al.*, 2012 ; Dortet et *al.*, 2012 ; Dortet et *al.*, 2014). Les avantages de ce protocole « MCNP » par rapport aux autres protocoles peuvent être résumés en 3 points essentiels

- Détection des carbapénémases chez différents types de bactéries (*Acinetobacter*, *Pseudomonas* et Entérobactéries) en utilisant un seul protocole
- Révélation très rapide des résultats en particulier dans le cas des espèces d'Entérobactéries et de *Pseudomonas* productrices d'enzymes de type métallo- β -lactamases (T < 1 minutes)
- détection de la production d'enzymes de type carbapénémase avant même l'identification des souches bactériennes (Bakour et *al.*, 2015).

Une enzyme de type métallo- β -lactamase (NDM-1) nouvellement rapportée dans le monde, a été signalée pour la première fois chez un patient algérien par Boulanger et *al.* En 2012. Le patient hospitalisé en soins intensifs à Oran a été transféré en Juillet 2011 à l'unité de soins intensifs de l'hôpital Bicêtre en France (Boulanger et *al.*, 2012). Dans la même année (2012), Bogaerts et *al.* Ont signalé la deuxième détection d'une souche d'*A. baumannii* productrice d'NDM-1 chez un patient algérien transféré en 2011 d'Algérie en Belgique (Bogaerts et *al.*, 2012).

Par la suite, d'autres études ont signalé la détection de cette enzyme chez des patients d'origine algérienne hospitalisés à l'étranger (Bonnin et *al.*, 2013 ; Decousser et *al.*, 2013). Les études de Bakour et *al* effectuées au niveau du laboratoire de l'écologie microbienne ont montré la présence de l'enzyme NDM-1 chez d'*A. baumannii* chez 13 souches ; 7 à l'hôpital central de l'armée à Alger entre Avril 2011 et Avril 2013, 4 au CHU de Sétif entre Novembre 2012 et Mars 2013, et 2 au CHU de Béni-Messous d'Alger en Février et Mars 2014. En outre, en Algérie, Mesli et *al.* ont rapporté en 2013 la détection de cette enzyme chez des souches isolées de patient hospitalisés à Oran (Mesli et *al.*, 2013). Dans notre étude 4 MBL ont été détectées une souche chez *un* patient hospitalisé au niveau de la réanimation et 3 souches chez des patients hospitalisés aux niveau du service de la neurochirurgie .

Ces enzymes confèrent un niveau élevé de résistance aux carbapénèmes, avec des CMI supérieures à 32 mg/l pour l'imipénème) dans la plupart des cas. et ça été le cas pour notre étude. Ces carbapénémases sont codées par des gènes qui se situent la plupart du temps au sein d'intégrons de classe 1 très souvent associés avec des gènes codant pour la résistance à d'autres familles d'antibiotiques (Poirel et *al.*, 2008).

Nous avons constaté une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particulier chez les bacilles à Gram négatif. La nature de cette résistance devient de plus en plus inquiétante avec l'émergence de nouveaux déterminants de résistance tels les carbapénémases cette propagation des bactéries multirésistantes devient un vrai problème de la santé publique c'est pour cela qu'il faut améliorer la capacité des laboratoires de microbiologie à l'hôpital à détecter l'ensemble des carbapénémases pour accroître le nombre de cas, Les carbapénèmes ne devraient être prescrits qu'en situation de risque d'infection à bacilles à Gram négatif résistants tels que *P. aeruginosa* (hors ertapénème) .En Algérie, aucune publication sur les carbapénémases produite chez des souches d'entérobactéries n'a été rapportée. Notre étude reste préliminaire et doit être complétée par

Discussions et Conclusion

- élargissement de l'étude aux autres services du CHU
- Etalement de l'étude sur une période plus longue et incluant d'autres types de prélèvements
- Etude des facteurs de risque dans l'acquisition des souches multirésistantes

Liste des abréviations

ADH : Arginine-Dihydrolase.

BLSE : Béta-Lactamases à Spectre Etendu.

CMI : Concentrations Minimales Inhibitrices

CTAB: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide.

EDTA: Ethylène Diamine Tétra-Acétique.

EPC: Enterobactéries Productrices des Carbapénémases .

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

F: Feminin.

GES : Guiana Extended Spectrum β -lactamase.

INF : Inférieur.

IMP: Imipénème ou Imipenemase .

KPC : *Klebsiella Peneumoniae* Carbapenemase.

LCD : Lysine-Décaeboxylase .

NDM: New Delhi Metallo β -lactamase.

M:Masculin.

MBL : Métallo Beta-lactamase.

OXA: Oxacillinase.

R : Résistant.

S : Sensible.

SUP : Supérieur.

VIM : Verona Itegron-encoded Métallo B-lactamase.

VIP : Voges Proskauer.

ANNEXE

Gélose Mac Conkey

Peptone de caséine.....	17 g
Peptone de viande.....	03 g
Lactose.....	10 g
Mélange de sels biliaires.....	1,5 g
Chlorure de sodium.....	0,3 g
Rouge neutre.....	0,03 g
Cristal violet.....	0,001 g

pH 7,4

Gélose Mueller Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	3 g
Hydrolat de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1,5 g
Agar.....	17 g

pH 7,4

Eau physiologique

Chlorure de sodium.....	9g
-------------------------	----

PH=7 (+ /-0,2)

Réactif de Kovacs

Alcool amylique ou isolamique	150ml
P.diméthylaminobenzoldehyde.....	10g
Acide chlorhydrique concentré.....	50ml

Réactif de Voges-Proskauer (VPI)

α Naphtol.....	6g
Alcool éthylique à 90°.....	100ml

Réactif de Voges-Proskauer (VPII)

NaOH4N



Résumé : Le portage digestif est mis en évidence par la recherche des souches de bacilles à Gram négatif productrice de carbapénémase dans les selles à partir d'écouvillonnages rectaux. 40 prélèvements ont été effectués au sein du CHU de Béjaia, Khelil Amrane, au niveau du service de la neurochirurgie et de réanimation. Une gélose Mac Conkey additionnée de l'imipénème à (1µg/ml) et de la Vancomycine à (4µg /ml) a servi pour l'isolement. L'identification des souches a été réalisée par galeries API 20. 9 antibiotiques ont été utilisés pour tester la sensibilité des souches. 7 souches de bacille à Gram négatif productrices de carbapénémase résistantes à toutes les bêta-lactamines, y compris les carbapénèmes ont été identifiées dont 2 *E. coli*, 2 *Serratia fonticola*, 2 *Pseudomonas Sp* et 1 *Salmonella Sp*. 4 souches ont été des MBL.

La diffusion des bactéries résistantes chez les patients incite à l'augmentation des mesures de sécurité et de contrôle dans les hôpitaux.

Mots clés : CHU Khelil Amrane, Portage fécal, bacilles à Gram négatif, β-lactamine, carbapémémase.

Summary: The digestive carriage is highlighted by searching for strains of gram-negative bacilli producing carbapenemase in stool from rectal swabs. 40 samples were made within the CHU of Bejaia, Khelil Amrane, at the level of the service of Neurosurgery and reanimation. A imipenem (1µg/ml) and Mac Conkey agar and (4µg ml) Vancomycin was used for isolation. Identification of strains was performed by galleries API 20. 9 antibiotic have been used to test the sensitivity of the strains. 7 strains of Bacillus has gram-negative resistant to all beta-lactam antibiotics carbapenemase-producing, including carbapenems have been identified including 2 *E coli* biotypes 2 *Serratia fonticola*, 2 *Pseudomonas Sp* and 1 *Salmonella Sp*. 4 strains were of the MBL. The spread of resistant bacteria in patients leads to increased security and control measures in hospitals.

Key words: CHU Khelil Amrane, fecal Portage, gram-negative bacilli, β - lactam, carbapememase.