

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 : Microbiologie en secteur biomédical et vétérinaire



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Portage fécal de Bacilles à Gram négatif
résistants aux carbapénèmes isolés chez des
patients à l'hôpital d'Amizour**

Présenté par :

TIGHRINE Kahina & ZOUGHEBI Sonia

Soutenu le : **16 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mr TOUATI A.
Mme GHAROUT A.
Mme ZENATI K.

Professeur Président
MAA Encadreur
MAA Examineur

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

Nous remercions notre bon dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour mener à terme ce travail.

D'abord, on aimerait souligner notre profonde reconnaissance à notre promotrice Mme GHAROUT A. Notre admiration envers vos accomplissements est absolue. Mille mercis de nous avoir offert cette opportunité. Nous vous souhaitons, madame, tout le bonheur.

Nous remercions tous les membres du jury Pr TOUATI A, M^{me} ZENATI K, pour l'examen et l'évaluation de notre travail. Nous vous exprimons toute notre gratitude.

Nous remercions également le chef de service de l'hôpital d'AMIZOUR Mr NAIT HEDDAD et Mr ABDELLEI pour leur aide précieuse, ainsi que tout le personnel du laboratoire.

Nos reconnaissances à toute l'équipe de Mr TOUATI A. pour leurs conseils et leurs esprits scientifiques.





Dédicaces



Je dédie ce travail :

En premier lieu mes très chers parents, que j'aime plus que tout.

A mes frères : Hamimi, Jugurta et Sœurs : Liza, Sarah.

A mes tantes (Fatiha, Khoukha) et oncles, Kenza et à tous les membres de ma famille

A mes grandes mères (paternelle et maternelle).

A mes très chères copines.

A tous mes amis, en particulier Aissa qui m'a beaucoup soutenu.

«Que dieu vous bénisse».

Kahina

Dédicaces

J'ai le grand honneur de dédier ce travail :

À ma grand-mère. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé et longue vie MAMANI.

À mes très chers parents que j'aime tant avec beaucoup d'affection. Il est difficile de décrire tout ce que vous avez pu m'apporter, mais sachez que j'en suis pleinement reconnaissante.

À mon grand père.

À mon frère «SOFIANE » et ma chère sœur « SANDRA ».

À toute ma famille maternelle et paternelle.

À mes adorables amis en particulier LILA.



Sonia

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction 1

Matériel et méthodes

I. Recueil de données 6

I.1. Prélèvements 6

I.2. Criblage, Isolement et purification..... 6

I.3. Identification 7

II. Criblage de souches productrices de carbapénémases par le carba NP test modifié..... 10

II.1. Carba NP test modifié..... 10

II.2. Détection des carbapénémases par le test de Hodge modifié..... 11

III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques 12

IV. Détection des métallobeta-lactamases (M^{BL}) : Test à l'EDTA..... 14

Résultats

I. Souches bactériennes isolées 15

I.1. Répartition des prélèvements selon les services..... 15

I.2. Répartition des souches par espèces..... 16

I.3. Répartition des souches productrices de carbapénémases..... 16

II. Analyse phénotypique des souches productrices de carbapénémases..... 17

II.1. Carba-NP test modifié..... 17

Sommaire

II. 2. Répartition des souches par services.....	17
II. 3. Répartition des souches selon le sexe.....	18
II.4. Test de Hodge modifié.....	18
II.5. Recherche de métallo- β -lactamases.....	19
II.6. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches productrices de carbapénémases...	19
Discussion.....	21
Conclusion.....	27
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I.	Aspect des colonies sur milieu CHROMagar (CHROMagar™ Orientation)....	07
II.	Interprétation des résultats du Carba NP test modifié.....	11
III.	liste des antibiotiques testés.....	13
IV.	Répartition des souches selon le sexe.....	17

Liste des figures

N°	Titre	Page
1.	Test de Hodge modifié.	12
2.	Disposition des disques Méthode des disques combinés.....	14
3.	Répartition des prélèvements selon les services.....	15
4.	Répartition des souches par espèces.....	16
5.	Répartition des souches productrices de carbapénémases par espèces.....	16
6.	Interprétation des résultats du cabra NP test modifié.	17
7.	Répartition des souches par service.....	18
8.	Résultats du test de Hodge modifié.....	19

Liste des Abréviations

AMC : Amoxicilline / Acide clavulanique

AmpC: céphalosporinases

ATB : Antibiotique

ATCC: American Type Culture Collection

ATM: Aztréonam

BGN : Bacilles à Gram Négatif

BPC : bactérie productrice de carbapénémases

bla : beta-lactamase-encoding *gene*

BLSE : -Lactamases à Spectre Elargi (ou Etendu)

BMR : Bactéries Multi-Résistantes

C3G : Céphalosporine de troisième génération

C4G : Céphalosporine de quatre génération.

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CAZ : Céftazidime

CIT : Citrate de Simmons

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CTAB: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide

CTX : Céfotaxime

CTX-M: Céfotaximase Munich

DD-Test: Double-Disc Test

EDTA : Ethylène-Diamine-Tétra Acétate.

EMB: Eosine-Bleu de Méthylène.

EPC: Entérobactéries Productrices de carbapénémases.

EPH : Etablissement public hospitalier.

ERT : Ertapénème.

ERV: Entérocoques résistants à la vancomycines.

FEP: Céfépime.

F : Féminin.

FOX : Céfoxitine

H₂S : Hydrogène Sulfuré.

IND: Indole.

Liste des abréviations

IPM: Imipénème.

I: Intermédiaire.

GLU: Glucose.

KPC : *Klebsiella pneumoniae* carbapénémases.

LAC: Lactose.

M : Masculin.

MAN: Mannitol.

M Ls: Métallo- -lactamases.

MEM: Méropénème

MOB: Mobilité.

NaCl : Chlorure de Sodium.

NaOH: L'hydroxyde de sodium

NDM: New Delhi métallo- -lactamase

NIT : Nitrate réductase.

OXA: Oxacillinase.

PCR: Polymerase Chain Reaction

PLP : Protéines Liant les Pénicillines.

R : Résistant.

RM: Rouge de Méthyle.

S: Sensible.

SARM : staphylocoque aureus résistant à la méticilline.

TEM : Temoneira.

TEM: Témocilline.

TSI: Three Sugar and Iron.

URE: Uréase.

VIM: Verona integron-encoded métallo- -lactamase

VP: Voges- Proskauer

ZnSO4 : sulfate de zinc

Introduction

La découverte des antibiotiques au début du XXe siècle a constitué une véritable révolution pour le traitement des maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, l'utilisation massive et parfois abusive des antibiotiques, en ville comme à l'hôpital, a modifié considérablement l'écologie microbienne et tend à augmenter le taux de bactéries résistantes. La plupart des espèces bactériennes sont capables d'intégrer dans leur génome différents déterminants de résistance (**Canton, 2003**).

Les β -lactamines sont des antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne et représentent une classe majeure d'antibiotiques, bactéricides, à large spectre et de faible toxicité. Elles sont utilisées dans de nombreuses pathologies infectieuses (**Bush, 2001**).

Leur structure repose sur un cycle β -lactame. En fonction du cycle adjacent, plusieurs familles se distinguent, ce qui explique la diversité des molécules : pénicillines (cycle pénème), céphalosporines (cycle céphème), imipénème (cycle pénème) et les inhibiteurs des β -lactamases (cycle clavame), (**Jacoby et Bush 2005**). En effet, ils se fixent sur des protéines de membrane, les Protéines de Liaison aux Pénicillines (PLP). Les principales PLP sont capables, entre autres, de transpeptidation. Les β -lactamines jouent donc le rôle du substrat en formant une liaison stable avec la PLP et bloquant ainsi son action (**Bush et al., 1995**).

La résistance enzymatique est universellement répandue au sein de très nombreux genres bactériens. Les β -lactamases constituent le mécanisme de résistance principal des bacilles à Gram négatif (BGN), chez lesquels elles sont très diversifiées. En effet, depuis l'introduction dans les années 80 de β -lactamines très stables à l'inactivation enzymatique (céphalosporines de 3ème génération ou C3G, aztréonam et carbapénèmes), une émergence continue et universelle de nouveaux enzymes a pu être observée (**Bush, 2001**).

Les carbapénèmes sont une classe d'antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines et ayant le spectre d'activité antimicrobienne le plus large. Les carbapénèmes ont un usage exclusivement hospitalier et sont principalement utilisés dans le traitement des infections à bactéries multi résistantes associée aux soins.

Les carbapénémases sont des β -lactamases ayant une activité hydrolytique vis à vis des carbapénèmes. Ces enzymes constituent une famille très composite, définie sur la base d'un spectre enzymatique (hydrolyse d'au moins un carbapénème disponible et non sur une base structurale (**Grall et al, 2011**).

Introduction

Ces enzymes appartiennent à quatre classes selon la classification d'Amblar.

La classe A : les pénicillinases de type sérine protéases, inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam.

La classe B : les métallo-enzymes, dont le site actif contient deux atomes de zinc. Elles sont résistantes à l'acide clavulanique, mais inhibées par l'Éthylène Diamine Tétra-Acétique (EDTA).

La classe C : les céphalosporinases (type AmpC) insensibles à l'acide clavulanique mais inhibées par la cloxacilline.

La classe D : les oxacillinases hydrolysant la cloxacilline et peu inhibées par l'acide clavulanique, mais inhibée in vitro par le chlorure de sodium (NaCl).

Dans ce système de classification moléculaire, les carbapénémases sont réparties dans les classes A, B et D (**Nordmann et al., 2012**).

Les principales espèces bactériennes productrices de carbapénémases sont *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp, *Serratia marcescens* et *Citrobacter freundii*. Causant des zones d'endémie (pourtour méditerranéen, Inde, Asie, Etats uni d'Amérique (USA) (**Nordmann et Carrer, 2010**).

La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des β -lactamases. Le premier mécanisme associe la production d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou une BLSE à une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des porines. Le second est lié à l'expression de β -lactamases à forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes, les carbapénémases chez *Acinetobacter baumannii* et chez *Pseudomonas* (**Nordmann et Carrer 2010**).

Ces carbapénémases constituent une famille très composite, définie sur la base d'un spectre enzymatique (hydrolyse d'au moins un carbapénème disponible) et non sur une base structurale (**Grall et al., 2011**).

Certaines souches productrices de carbapénémases sont, quelle que soit la méthode d'antibiogramme utilisée, catégorisées sensibles (S) aux carbapénèmes, notamment aux molécules autres que l'ertapénème (imipénème, méropénème).

L'ertapénème est le carbapénème le plus sensible pour la détection des souches productrices de carbapénémases. On doit suspecter la production d'une carbapénémase lorsque le diamètre d'inhibition autour du disque d'ertapénème est < 28 mm ou que la CMI est $> 0,5$ mg/L. En cas de suspicion, la production de carbapénémase doit être confirmée à l'aide de techniques phénotypiques et/ou génotypiques. En effet, la détection des

carbapénèmases est indispensable pour mettre en oeuvre les mesures de prévention pour empêcher la dissémination épidémique des souches et le risque d'impasse thérapeutique qui en découlerait (souches pan-résistantes) (**Dortet *et al.*, 2013**).

Etant donné que le réservoir majeur des entérobactéries est constitué par le tube digestif, l'analyse des selles ou d'écouvillons rectaux correspond aux besoins diagnostiques. Plusieurs milieux de culture sélectifs sont commercialisés, mais ils sont dans leur majorité dédiés à l'identification des germes résistants aux carbapénèmes (combinaison céphalosporinase hyper produite + imperméabilité ou carbapénèmase) plutôt qu'aux seuls germes producteurs de carbapénèmases (**Girlich *et al.*, 2013**). Certaines souches productrices de carbapénèmases conservent une sensibilité significative aux carbapénèmes, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) faiblement impactées et se situant donc juste au-dessus ou en dessous des concentrations critiques en fonction des carbapénèmes (l'értapénème est classiquement la première touchée). Dans ce contexte, l'utilisation d'un milieu trop sélectif pourrait conduire à des résultats faussement négatifs.

Le milieu de culture sélectif SUPERCARBA contenant de la cloxacilline, du zinc et de l'értapénème, a une sensibilité et une spécificité excellentes, y compris pour les souches productrices d'OXA-48 présentant une faible CMI aux carbapénèmes (**Girlich *et al.*, 2013**). En pratique courante au sein des laboratoires de microbiologie, la détection des bactéries productrices de carbapénèmases s'appuie tout d'abord sur la détermination de la sensibilité des souches aux carbapénèmes quelle que soit la méthode utilisée.

Les carbapénèmases peuvent conférer une résistance à presque toutes les β -lactamines, y compris les C3G, les C4G et les carbapénèmes et sont inhibées de manière variable par les inhibiteurs de β -lactamases (**Nordmann *et al.*, 2012**).

Les Carbapénèmases les plus fréquentes sont surtout les enzymes de types KPC, VIM, IMP, NDM et OXA-48 types, et leurs propriétés détaillées ont été largement rapportées. L'enzyme KPC hydrolyse toutes les β -lactamines bien qu'elles hydrolysent les céphamycines à un niveau faible, leur activité n'est inhibée que partiellement *in vitro* par l'acide clavulanique, le tazobactam et l'acide borique.

La première souche productrice de KPC (KPC-1=KPC-2) a été identifiée en 1996 en Caroline du Nord aux Etats-Unis dans une souche de *Klebsiella pneumoniae*. Cette découverte fut rapidement suivie par la description de neuf autres variantes (KPC-3 à KPC-23).

En quelques années, les producteurs KPC étaient répandus dans le monde et ont été décrits dans la partie continentale des Etats-Unis avec notamment une très forte prévalence dans l'état de New York et en particulier à Porto Rico, la Colombie, la Grèce, Israël, et la Chine.

Les épidémies de souches productrices KPC ont également été signalées dans de nombreux pays européens et en Amérique du Sud (**Kontopoulou et al., 2010**).

Les métallo- β -lactamases (MBL : IMP, VIM et NDM) hydrolysent toutes les β -lactamines sauf l'aztréonam et leur activité n'est pas affectée par aucun des inhibiteurs qui sont en usage clinique, mais ils peuvent être inhibées *in vitro* par des composés tels que chélateurs de zinc (EDTA par exemple) (**Nordmann et al., 2011**). Une résistance à l'aztréonam est cependant observée en cas d'association d'un autre type de β -lactamase (p.ex.: une BLSE, une céphalosporinase AmpC). Des mécanismes de résistance associés multiples sont souvent présents.

Un des principaux facteurs de risque pour l'acquisition de bactéries productrices de NDM-1 (en dehors de voyages dans les pays à risque) est la prescription antérieure de β -lactamines. Plusieurs facteurs font de cette enzyme une réelle menace sanitaire mondiale :

- le premier est sa présence chez de nombreuses espèces bactériennes, y compris dans l'environnement (en Inde et Pakistan notamment) ;
- le deuxième est la fréquence de l'acquisition de ce gène par *K. pneumoniae*, qui constitue un des principaux pathogènes nosocomiaux et *E. coli*, qui reste de loin la principale bactérie dans les infections communautaires et dont le réservoir intestinal pourrait permettre une dissémination très inquiétante ;
- le troisième est la taille du réservoir potentiel que constitue la population du sous-continent indien à 1.4 milliard de personnes (**Struelens et al., 2010**).

Les enzymes de type OXA-48 hydrolysent les aminopénicillines, les ureidopénicillines et les carbapénèmes à des niveaux faibles et présentent typiquement une résistance de haut niveau à la témocilline (pas de zone d'inhibition par diffusion en disque), mais n'hydrolyse pas sensiblement les céphalosporines à large spectre. Leur activité n'est pas affectée par les inhibiteurs utilisés en clinique, mais ils sont inhibés par le NaCl *in vitro* (**Queenan et al., 2007**).

La détection des porteurs sains est particulièrement importante pour prévenir le développement d'épidémies en milieu hospitalier (**Schwaber et Carmeli, 2008**). Ce dépistage repose actuellement sur un dépistage réalisé à partir des selles des patients ou d'écouvillonnage rectal avec l'utilisation de géloses sélectives permettant d'identifier des souches suspectes, résistantes aux carbapénèmes (**Nordmann et al., 2013**).

Introduction

Par le présent travail, nous nous sommes intéressés aux bacilles à Gram négatifs chez des patients admis au niveau des services d'EPH d'Amizour.

Dans cette étude prospective, nous détaillerons les outils méthodologiques utilisés avant d'exposer les résultats de notre travail qui sont comme suit :

- ✓ Prélèvement et isolement des souches dans des bouillons nutritifs additionnés d'antibiotiques.
- ✓ Isolement des souches sur milieu Mac Conkey additionnée de Méropénème (0,5 µg/ml) ou d'ertapénème (0,25 µg/ml) et de la Cloxacilline (250 µg /ml).
- ✓ Criblage de souches productrices de carbapénémases en utilisant le carba NP test modifié.
- ✓ Réalisation du Test de Hodge modifié.
- ✓ Détection des métallo- -lactamases (MBL).

Matériel

et

méthodes

L'objectif de ce travail qui s'est déroulée au niveau de l'EPH (établissement public hospitalier) EL Meki el Merad d'Amizour, durant la période allant du 8 Mars au 18 mai 2015, est la recherche des bacilles à Gram négatif résistants par production de carbapénémases dans la flore fécale des patients admis dans les services suivants : oncologie, réanimation, externe, pédiatrie, urgences, médecine interne et chirurgie.

Les sujets inclus dans l'étude présentaient les caractères suivants : Tous les patients ont été inclus quel que soit leur sexe ou leur âge.

I. Recueil des données

Dans le cadre de la réalisation de ce travail, nous avons distribué pour chaque patient un écouvillon stérile et un questionnaire est rempli à la fin (Annexe I).

I.1. Prélèvements

Les prélèvements sont effectués dans tous les services à l'exception du service de maternité. Dans le cas des prélèvements effectués chez les externes, les données ont été recueillies à partir des registres du laboratoire de bactériologie de l'hôpital. Les prélèvements sont ensuite transportés au laboratoire de microbiologie.

I.2. Isolement et purification

Les milieux et les réactifs utilisés durant notre étude sont donnés dans **Annexe III**.

Chaque prélèvement est introduit dans 1 ml d'eau physiologique pendant 24h stérile et ensuite 100 µl sontensemencés dans trois tubes de bouillon nutritif additionnés d'antibiotique comme suit :

Tube 1 : 4 ml de bouillon nutritif additionné d'ertapénème à raison de 0,25 mg/l + vancomycine à 16 mg/l.

Tube2 : 4 ml de bouillon nutritif additionné de méropénème à raison de 0,5 mg/l + vancomycine à 16 mg/l.

Tube3 : 2 ml de bouillon nutritif additionné de témocilline à raison de 16 mg/l + vancomycine à 16 mg/l.

Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h. Les bouillons nutritifs positifs sont ensemencés à l'aide de pipettes Pasteur sur gélose Mc Conkey additionné avec les mêmes concentrations d'antibiotique (en fonction du tube d'isolement). L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h.

Après 24h d'incubation, on effectue une observation macroscopique des colonies ayant poussées sur le milieu. On obtient deux types de colonies : des bactéries à lactose positif de couleur rose à rouge et des colonies incolores ou faiblement colorées à beige présentent des bactéries à lactose négatif.

Si la culture est polymicrobienne, des repiquages successifs sont réalisés afin de purifier les souches isolées. Ces boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

L'isolement des souches bactériennes est réalisé sur plusieurs milieux de cultures sélectifs additionnés de ZnSO₄ à concentration 75 mg/l selon les recommandations de CA-SFM 2013. L'ajout de ZnSO₄ dans le milieu permet d'augmenter très notablement la sensibilité des – lactamase de classe B.

I. 3. Identification

L'identification des souches isolées a été réalisée sur la base de l'aspect des colonies sur milieux chromagar (CHROMagar™ Orientation) et aussi les caractères biochimiques par la réalisation d'une galerie biochimique classique (Denis *et al.*, 2007).

La lecture sur milieu Chromagar est résumée dans le **Tableau I**.

Tableau N°I : Aspect des colonies sur milieu Chromagar (CHROMagar™ Orientation)

Espèces	Couleur de colonies
<i>Escherichia coli</i>	Colonies rose à pourpre
<i>KES (Klebsiella, Enterobacter, Serratia)</i>	Colonies bleu vert à bleues avec ou sans auréole violette
<i>Proteus mirabilis, Morganella, Providencia</i>	Colonies pâles à beiges, cernées d'une auréole ambre à marron.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies muqueuses blanches brunâtres
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Colonies muqueuses blanches opaque

➤ **Galerie biochimique**

• **La recherche des nitrates réductase**

Ce milieu permet de mettre en évidence la nitrate réductase qui réduit le nitrate NO_3 en nitrite NO_2 . On ensemence le bouillon avec la suspension bactérienne, et on incube à 37°C pendant 24h. La révélation se fait en ajoutant deux réactifs : **NRI** et **NRII** et la lecture des résultats se fait comme suit :

Une nitrate réductase positive se traduit par une coloration rouge. Si la réaction est négative, on ajoute une petite quantité de poudre de Zinc au milieu incolore. On agite puis on laisse agir pendant 5 min. Après ce temps, s'il ya apparition d'une couleur rouge cela confirme que la souche ne possède pas de nitrate réductase, et si la couleur reste inchangée la souche produit une nitrate qui réduit le nitrate jusqu'au stade d'azote atmosphérique N_2 .

• **Fermentation des sucres (glucose, saccharose et lactose), la production d' H_2S et le gaz**

A partir de la suspension bactérienne, on ensemence la pente du milieu TSI par stries serrées, puis le culot par simple pique centrale. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24h. L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu est révélée par le virage de l'indicateur de pH, le rouge de phénol, du rouge au jaune. La lecture des résultats est faite comme suit :

Fermentation de glucose : couleur jaune du culot.

Fermentation de lactose : couleur jaune de la pente.

Fermentation de saccharose : couleur jaune au centre du tube.

Production d' H_2S : noircissement de tout le milieu ou apparition d'un précipité noir juste au dessous de la pente.

Production de gaz (CO_2 ou H_2) : se traduit par le soulèvement ou fracturation de la gélose, ou par l'apparition de bulles de gaz.

- **Utilisation de citrate**

La pente du milieu de citrate de Simmons estensemencée par une strie à partir de la colonie. L'incubation est effectuée à 37 °C pendant 24h jusqu'à 7 jours. L'utilisation du citrate se traduit par un virage de la couleur du milieu (vert au bleu) due à l'alcalinisation.

- **Etude de la voie fermentaire (test RM et VP)**

Afin de mettre en évidence la voie de fermentation, le milieu Clark et Lubs estensemencé à partir de la suspension bactérienne et incubé à 37° pendant 24h. Après incubation, le contenu du tube est divisé en 2 tubes et la lecture se fait comme suit :

Tube A : on ajoute 5 gouttes de VPI et 5 gouttes de VPII. La suspension est chauffée et laissé 10 min avant la lecture. L'apparition d'une couleur rouge cerise indique une réaction positive.

Tube B : on ajoute quelques gouttes du réactif RM. La lecture est immédiate, un virage au rouge indique une réaction RM positif.

- **Etude de la mobilité et de la fermentation du mannitol**

Le milieu mannitol-mobilité estensemencé par piqure centrale à l'aide d'une pipette Pasteur. L'incubation est réalisée à 37 C° pendant 24 h.

La fermentation du mannitol se traduit par une coloration jaune du milieu.

La mobilité est montrée par la formation d'un voile qui diffuse de part et d'autre de la strie d'ensemencement.

- **Recherche de l'uréase et de la production d'indole**

Ces deux tests sont recherchés simultanément sur le milieu urée-indole à partir d'une suspension bactérienne. L'incubation est effectuée 37C° pendant 24h.

La présence d'une uréase se traduit par le virage de la couleur du milieu au rose.

La production d'indole se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge en surface après addition de quelques gouttes du réactif de Kovacs.

II. Criblage de souches productrices de carbapénémases

II.1. carba NP test Modifié

C'est un test biochimique basé sur les propriétés d'acidification générées par l'hydrolyse enzymatique lorsque l'antibiotique (carbapénèmes) est clivé par chacune des enzymes carbapénémases. Si l'une de ces enzymes est présente, le milieu s'acidifie et l'hydrolyse de l'imipénème est détectée par un changement de l'indicateur de pH (rouge au jaune / orange) (Bakour *et al.*, 2014).

Réactifs

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

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

- 1- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol à 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 à 10mM.
- 4- Ajuster le pH à 7 avec une solution de NaOH (1N).

Pour détecter la production d'une carbapénémases, 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 SolutionA+imipénème à 6mg/ml dans le tube Eppendorf "B".
- 5- Vortexer 5 sec puis incubé à 37°C pendant < 2h (Bakour *et al.*, 2014).

La lecture visuelle est effectuée dans chaque tube Eppendorf et les résultats sont interprétés selon le tableau ci-dessous.

Ce test est réalisé en présence d'un témoin positif et négatif pour sa validation.

La lecture visuelle est effectuée dans chaque tube eppendorf et les résultats sont interprétés selon le tableau ci-dessous.

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

Tube A	Tube B	Interprétation
Rouge	Rouge	Pas de production carbapénémase
Rouge	Orange/jaune	Production de Carbapénémase
Jaune	Jaune	Non interprétable

II.2. Détection des carbapénémases par le test de Hodge modifié

Le Hodge test modifié est réalisé chez des souches positives par le carba NP test modifié.

Ce test consiste à ensemencer en culture confluyente (à l'aide d'un écouvillon) de la souche *E. coli* ATCC 25922 sur une gélose Mc Conkey additionnée de ZnSo₄. Ensuite, un disque d'imipénème chargé à 10 µg est déposé au centre de la boîte et chaque souche testée est ensemencée de manière radiale à partir du disque jusqu'au bord de la boîte de Pétri. 10 µl de cloxaciline à raison de 75 mg/ml sont déposés sur le disque d'imipénème. La présence d'une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème au contact de la souche testée est interprétée comme un résultat positif après incubation pendant 18 h à 37°C (figure 1) (Lee *et al.*, 2010 ; CA-SFM, 2013).

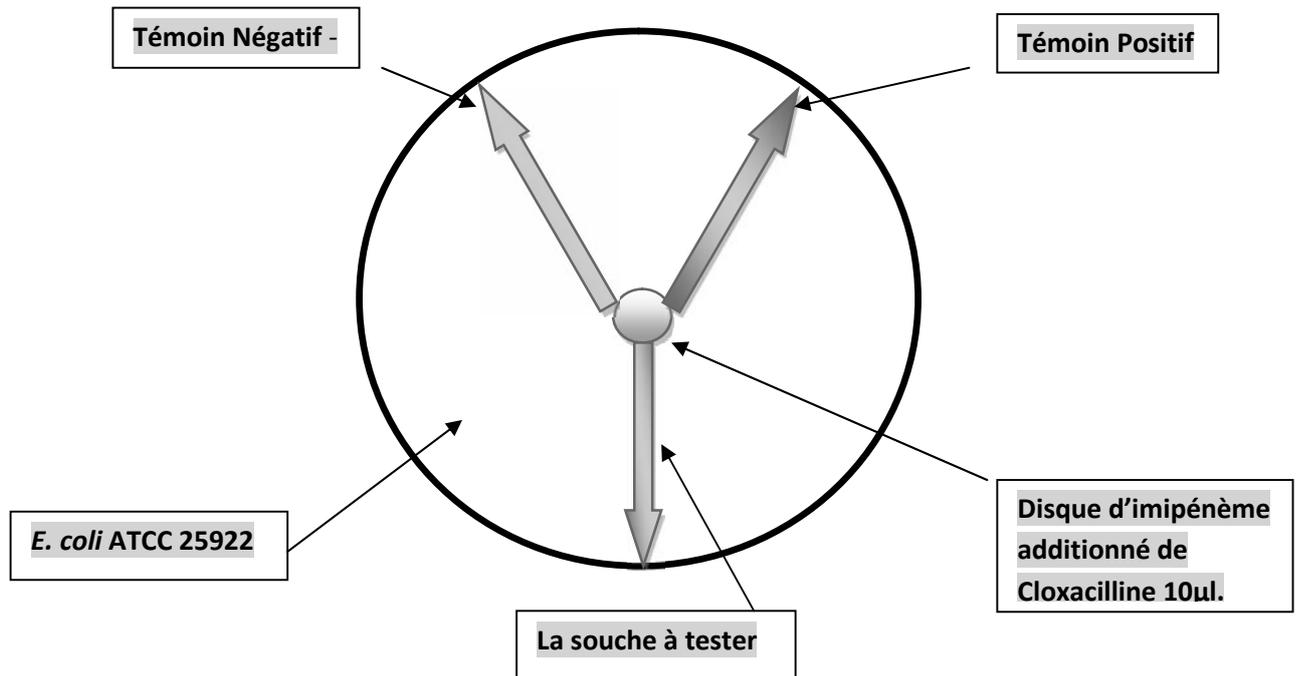


Figure N°1 : Test de Hodge modifié.

IV. Détection des metallo- β -lactamases (M β L) : Test à l'EDTA

IV.1. Méthode des disques combinés

Deux disques d'imipénème (Bio-Rad®) (10µg) sont déposés suffisamment distant sur la même boîte de Pétri contenant la gélose Mueller Hinton préalablementensemencée avec la souche à tester, l'un comme témoin et sur l'autre un volume de 5µl de solution d'EDTA (750µg d'EDTA) est ajouté. En outre, 5µl de la solution d'EDTA est ajouté sur un disque vierge (témoin négatif) (Figure 2). Les diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques sont mesurés et comparés après 16 à 18 h d'incubation à 37 °C.

Les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque IMP-EDTA est supérieur à celui obtenu avec le disque d'IMP seul d'au moins 6mm sont considérées comme souches productrices de MBL (Yong *et al.*, 2002).

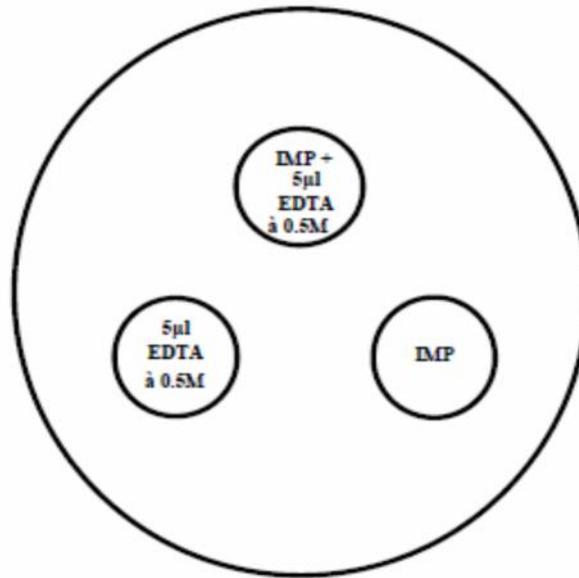


Figure N°2 : disposition des disques
Méthode des disques combinés.

III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

Les souches ont été testées vis à vis d'un ensemble de 10 β -lactamines (**tableau III**). La sensibilité des souches aux antibiotiques est évaluée par la méthode de diffusion sur gélose Muller-Hinton selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de microbiologie (**CA-SFM 2013, EUCAST 2015**).

L'antibiogramme est réalisé sur la gélose Mueller Hinton. L'épaisseur de la gélose est de 4mm. Après avoir coulé la gélose, les boîtes sont séchées afin d'éliminer l'excès d'humidité.

A partir d'une culture pure de 18-24h, des colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées, puis déchargées dans 5 ml d'eau physiologique stérile et bien homogénéisées. L'opacité de l'inoculum doit être équivalente à 10^8 UFC/ml par la suite, une dilution de 1/10 est réalisée.

Un écouvillon stérile est imbibé dans la suspension bactérienne, puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de décharger au maximum.

L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de

faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et en le passant sur la périphérie de la gélose. Les boîtes sont incubées pendant 24h à 37°C.

Chaque disque d'antibiotiques est déposé sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince. Ensuite les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24.

Les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse et l'interprétation en Sensible (S), Intermédiaire (I) Ou Résistante (R) est effectuée selon les critères définis par le CA-SFM 2013 et dans le cas de la Témocilline selon les critères définis par le CA-SFM 2015. **Annexe V**

Tableau N° III: La liste des antibiotiques testés

Antibiotique	Abréviation	Charge de disque µg	Marque
Amoxicilline + Clavulanate	AMC	20/10 µg	Bio-Rad®
Céfoxitine	FOX	30µg	CYPRESS DIAGNOSTICS®
Céfotaxime	CTX	30µg	CYPRESS DIAGNOSTICS®
Céftazidime	CAZ	30µg	CYPRESS DIAGNOSTICS®
Céfépime	FEP	30µg	CYPRESS DIAGNOSTICS®
Imipénème	IMP	10µg	CYPRESS DIAGNOSTICS®
Ertapénème	ETP	10µg	Bio-Rad®
Méropénème	MEM	10µg	Bio-Rad®
Témocilline	TEM	30µg	Bio-Rad®
Aztréonam	ATM	30µg	Bio-Rad®

Résultats

I. Souches bactériennes isolées

Durant cette étude qui s'est déroulée pendant une période de 2 mois et 10 jours, cent seize (116) souches ont été isolées à partir de 151 prélèvements rectaux.

I.1. Répartition des prélèvements selon les services

Cette figure montre la répartition des prélèvements selon les services ; le taux le plus élevé des prélèvements est observé dans le service d'oncologie qui est de (30/151)19,86% .La figure 3 montre la répartition des prélèvements selon les services.

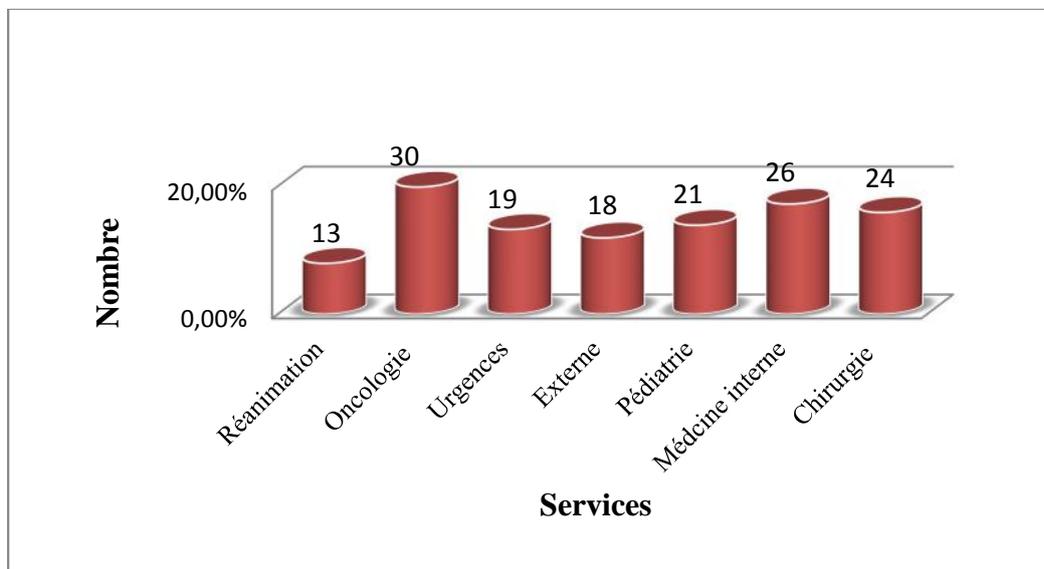


Figure N° 3 : La répartition des prélèvements selon les services

I.2. Répartition des souches par espèces

Les souches isolées appartiennent à différentes espèces comme le montre la figure N°4.

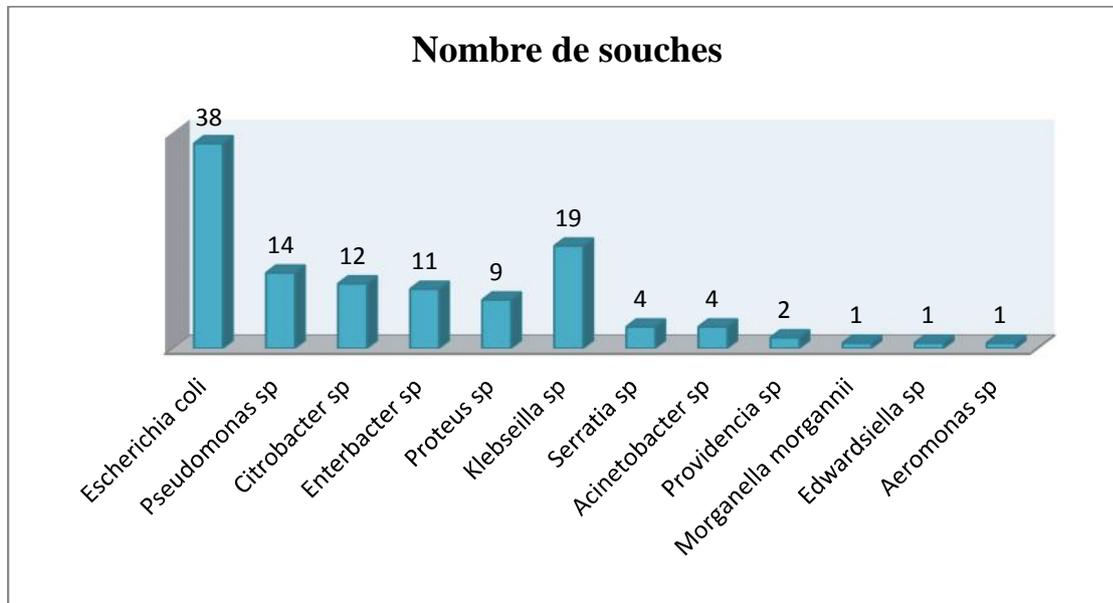


Figure N° 4 : Répartition des souches par espèces

I.3. Répartition des souches productrices de carbapénémases par espèces

Cette figure montre leur répartition en fonction de l'espèce montrant que *Escherichia coli* est l'espèce la plus isolée suivie de *Klebsiella sp*.

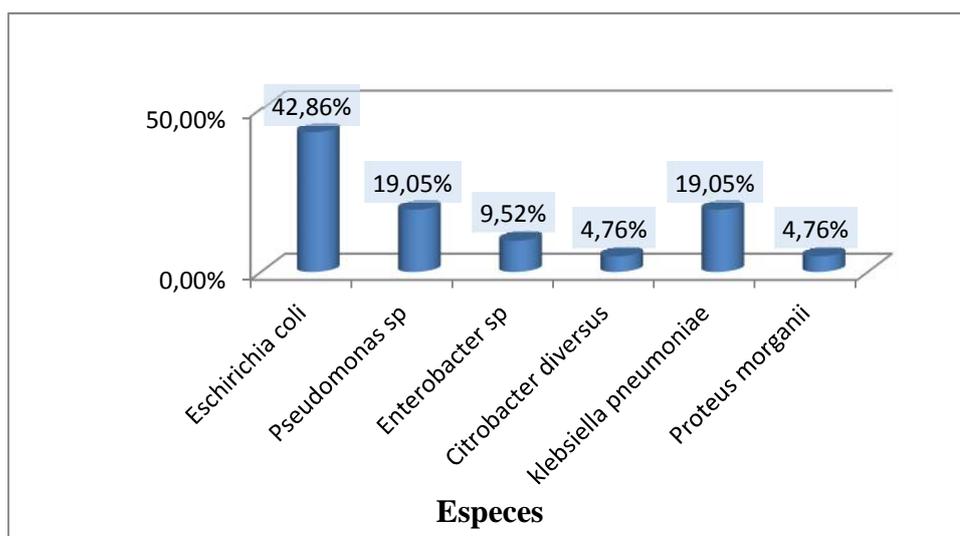


Figure N°5 : Répartition des souches productrices de carbapénémases par espèces

Les souches productrices de carbapénémases sont représentées essentiellement par l'espèce *Escherichia coli* avec un taux de 42,86%.

II. Analyse phénotypique des souches productrices de carbapénémases

II.1. Carba-NP test modifié

Le carba NP test modifié réalisé sur l'ensemble des souches isolées s'est révélé positif chez 21 souches (figure N°6). Le test s'est révélé négatif chez 55 souches et non interprétables chez les 40 autres souches. Les résultats ont montré que cette méthode « Modified Carba NP test » a permis la détection des enzymes carbapénémases à un temps < 10 minutes pour 21 souches.

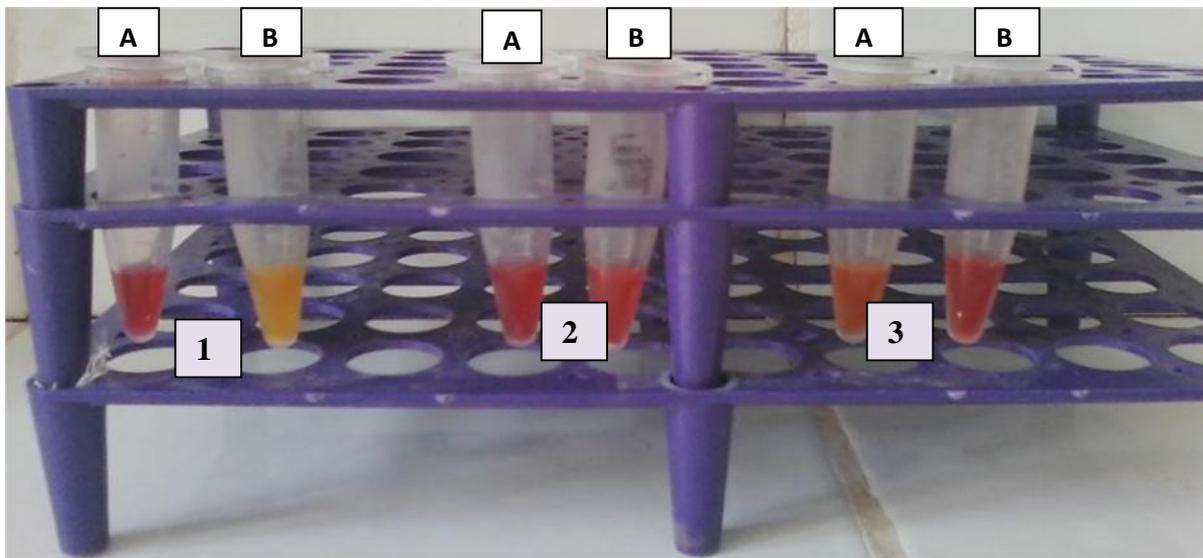


Figure N°06 : Interprétation des résultats du carba NP test modifié

A : rouge	B : jaune	1 : résultat positif
A : rouge	B : rouge	2 : résultat négatif
A : orange	B : rouge	3 : résultat non interprétable

II. 2. Répartition des souches par services.

La répartition des souches positives (figure 7) dans le carba NP test modifié montre que 13/21 des souches sont isolées chez des patients admis à l'hôpital, contre 8/21 souches

isolées chez des patients externes. Le service de Médecine interne enregistre le taux le plus important de souches qui est de 6/21, suivi du service chirurgie avec un taux de 3/21.

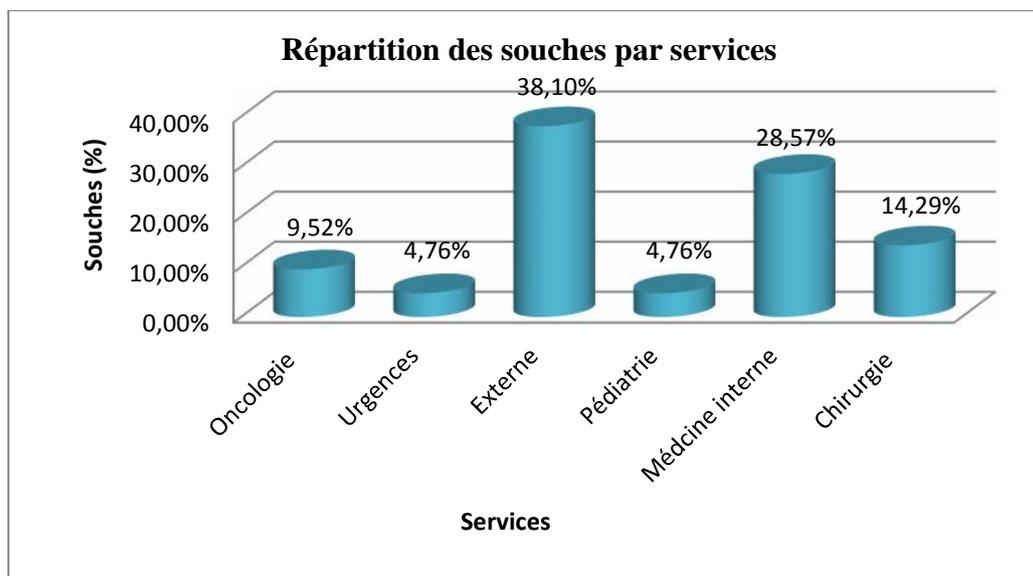


Figure N° 7 : Répartition des souches par services

II. 3. Répartition des souches selon le sexe

Parmi les 21 souches isolées, 15 (71,43%) proviennent de femmes et 06(28,57%) d'hommes (tableau V).

Tableau N°VI: Répartition des souches selon le sexe

Sexe Effectif	Nombre	Pourcentage %
Homme	06	28,57%
Femme	15	71,43 %
Total 21	21	100

II.4. Test de Hodge modifié

Le test de Hodge (figure 08) a permis de mettre en évidence la production de carbapénémases chez 18 souches et cela par l'observation d'une déformation de la zone d'inhibition entre les stries des souches testées et la culture d'*Escherichia coli* 25922. 3 souches positives dans le carba NP test ne sont pas détectées par le test de Hodge donc le carba NP test est plus fiable

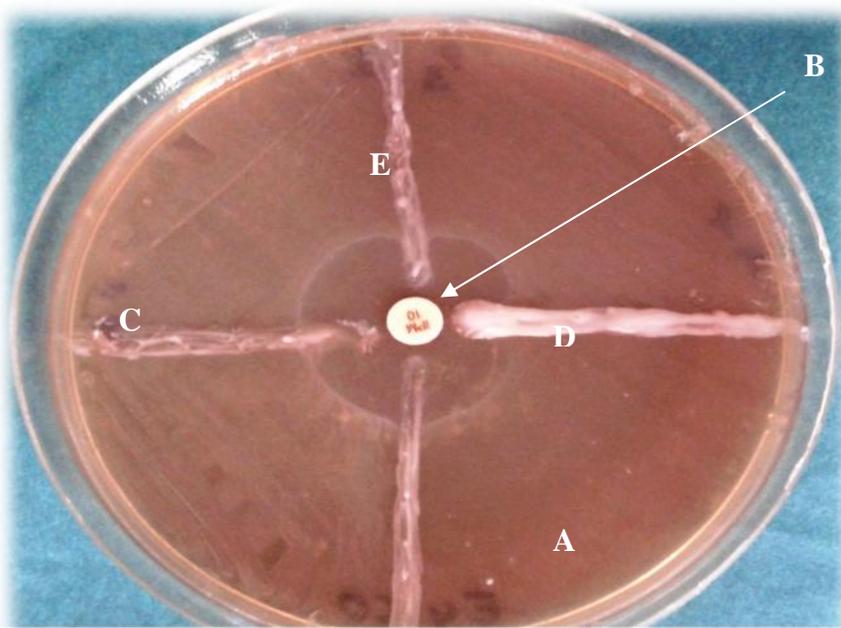


Figure N°08 : Résultats du test de Hodge modifié

A : la souche *E. coli* ATCC25922

B : disque d'imipenème additionné de 10 μ L de cloxaciline

C : témoin négatif (*Escherichia coli* ATCC25922)

D : témoin positif (*Klebsiella pneumoniae* 144 (KPC)).

E : souche positive, déformation de la zone d'inhibition à l'intersection entre une strie et la culture d'*E. coli* ATCC 25922.

II.5. Recherche de métallobactamases

Le test à l'EDTA était négatif chez les 21 souches testées signifiant l'absence de métallobactamase parmi les carbapénémases produites.

II.6 Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches productrices de carbapénémases

Plusieurs antibiotiques de la famille des β -lactamines ont été testés sur les souches productrices de carbapénémases. Il est signalé que l'antibiogramme est réalisé chez les souches carba NP test non interprétables (**tableau n°5, Annexe VI**), Les résultats obtenus pour le carba NP test positif sont montrés dans le tableau ci-dessus :

Résultats

Tableau N° V:Caractéristiques des souches productrices de carbapénèmes

Code	Souche	AMC	FOX	CTX	CAZ	FEP	IMP	ETP	MEM	TEM	ATZ	Carba NP test	Test de Hodge	test à l' EDTA
M12bl	<i>Enterobactersp</i>	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	NT	NT	+	-	-
M13rf	<i>Klebsiella sp</i>	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	22 (I)	6 (R)	19 (I)	NT	NT	+	-	-
M6bl	<i>Enterobactersp</i>	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	11(R)	6 (R)	15(R)	26(S)	15(R)	+	+	-
M14bl	<i>Proteusmirabils</i>	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	12(R)	6 (R)	6 (R)	6(R)	35(S)	+	+	-
M16r	<i>E coli</i>	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	16 (R)	10(R)	20(I)	25(S)	36(S)	+	+	-
M17	<i>Pseudomonas sp</i>	6 (R)	6 (R)	13(R)	6 (R)	14(R)	20(I)	6 (R)	21(I)	6(R)	36(S)	+	+	-
E9i	<i>E coli</i>	21(S)	21(S)	19 (R)	20 (R)	22(R)	23(I)	6 (R)	24(S)	NT	NT	+	+	-
E9r	<i>E coli</i>	6 (R)	6 (R)	21 (R)	19 (R)	26(R)	20(I)	9(R)	29(S)	NT	NT	+	-	-
E10bl	<i>Enterobactersp</i>	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	23(I)	8(R)	12(R)	26(S)	6(R)	+	+	-
E10rc	<i>Citrobactersp</i>	10(R)	12(R)	21 (R)	6 (R)	6 (R)	20(I)	14(R)	15(R)	35(S)	34(S)	+	-	-
E11gp	<i>Pseudomonas sp</i>	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	16(R)	6 (R)	7(R)	6(R)	33(S)	+	+	-
E2i	<i>Pseudomonas sp</i>	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	14(R)	6 (R)	6 (R)	6(R)	30(S)	+	+	-
E4rf	<i>E coli</i>	15(R)	17(S)	18(R)	17 (R)	14(R)	21(I)	21 (R)	16 (I)	NT	NT	+	+	-
E10rf	<i>Pseudomonas sp</i>	6 (R)	7 (R)	6 (R)	16 (R)	6 (R)	19 (I)	19 (R)	18(I)	20(S)	34(S)	+	+	-
ch9r	<i>E coli</i>	13(R)	15 (I)	19 (R)	17 (R)	18(R)	20(I)	22(R)	21(I)	NT	NT	+	+	-
ch2bl	<i>Proteusmirabils</i>	6 (R)	15 (I)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	14(R)	20 (R)	15(R)	16(R)	18(R)	+	+	-
ch23br	<i>E coli</i>	6 (R)	14(R)	6 (R)	6 (R)	27 (R)	28(S)	30(S)	30(S)	NT	NT	+	+	-
ch23bl	<i>E coli</i>	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	14(R)	29(S)	32(S)	27(S)	NT	NT	+	+	-
P3I	<i>E coli</i>	8 (R)	6 (R)	21 (R)	7 (R)	9(R)	28(S)	15(R)	22(S)	6(R)	32(S)	+	+	-
O19bl	<i>Klebsiella sp</i>	14(R)	12 (R)	18 (R)	15(R)	19 (R)	13 (R)	19 (R)	17 (I)	6(R)	35(S)	+	+	-
O18rf	<i>E coli</i>	15(R)	19 (I)	23 (I)	16(R)	17 (R)	23(I)	19 (R)	21(I)	6(R)	30(S)	+	+	-
U11r	<i>Klebsiella sp</i>	6 (R)	8 (R)	20 (R)	16(R)	20 (R)	11(R)	21 (R)	14(R)	NT	NT	+	+	-

Légende : **AMC:** AmoxicillineAcideclavulanique, **FOX:** Céfoxitine, **CTX:** Céfotaxime, **CAZ :** Céf tazidime, **FEP:** Céfipime, **IMP:** Imipinème, **ETP :** Ertapénème, **MEM:** Méropénème, **TEM:** Témocilline, **ATZ:** Aztréonème.

Discussion

Au cours de ces dix dernières années, les bactéries Gram négatif multi résistantes sont devenues un problème majeur de santé publique (**DiPersio et al., 2005**). Depuis les années 2000, nous assistons en Europe et dans le monde à une augmentation constante de la prévalence des entérobactéries résistantes aux β -lactamines (**Nordmann et al., 2011**).

Le principal réservoir de ces souches est le tractus intestinal. Ces souches se retrouvent aussi au niveau des mains du personnel soignant, contribuant à une contamination croisée (**Randrianira et al., 2009**). La plupart des entérobactéries étant des souches de colonisation, sans indications de traitement constituent dès lors un important réservoir de bactéries multi résistantes (**Mayoral et al., 2010**).

Dans la grande majorité des cas, les patients s'infectent à partir de leur propre flore fécale (Infections endogènes). Cette flore va se modifier au cours de l'hospitalisation avec l'acquisition de bactéries de l'environnement, le plus souvent bactéries à Gram négatif. Ces bactéries sont naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques et ont une grande capacité d'acquisition de nouveaux mécanismes de résistance ; elles survivent et se multiplient en milieu hospitalier, où elles sont favorisées par la pression de sélection qu'exercent les nombreux antibiotiques prescrits, surtout en réanimation. A partir de l'environnement, elles vont coloniser les patients, apportées le plus souvent par les mains du personnel (**Godreuil et al., 2007**).

Durant cette étude, nous avons réalisé 151 prélèvements chez des patients à l'admission dans différents services de l'EPH d'Amizour.

Nous avons isolée 116 souches (*Entérobactéries*, *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp*), Nous avons retrouvé un taux élevé d'*Entérobactéries* (98/116) 84.48%, suivi par *Pseudomonas sp* à un taux de (14/116) 12.07%, et d'*Acinetobacter sp* avec un taux de (4/116) 3,45 %.

L'usage des antibiotiques de la famille des carbapénèmes s'est répandu au cours des dernières années, notamment pour le traitement d'infections causées par des bactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération. Dans le cas présent, elles ont développé une résistance aux carbapénèmes conférée par la production d'une carbapénémase.

Discussion

Les carbapénèmes sont actifs sur la plupart des bacilles à Gram négatif notamment les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*. Seul l'értapénème a un spectre restreint aux entérobactéries.

La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries s'explique essentiellement par deux mécanismes :

- le premier résulte d'un défaut de perméabilité membranaire par altération qualitative ou quantitative des porines membranaires, voie de pénétration des carbapénèmes dans la bactérie,
- le second correspond à l'inactivation de l'antibiotique par la production de carbapénémases.

L'émergence de ces enzymes est décrite de façon croissante dans le monde entier et constitue un réel problème pour la santé publique, les carbapénèmes représentant très souvent les dernières molécules actives de l'arsenal thérapeutique pour combattre les bactéries multi résistantes dont les carbapénémases de type KPC (pour *Klebsiella pneumoniae* carbapénémases) ont tout d'abord été décrites sur la côte est des États Unis en 1996 (**Yigit et al.,2001**).

Le portage fécal de carbapénémases est de (18/151).ce résultat concorde avec les résultats obtenus en France (**Pantel et al., 2014**).

Sur les 116 souches, 21 souches sont retrouvées productrices de carbapénémases incluant 17 *Entérobactéries* et 4 *pseudomonas sp.*

Parmi les Entérobactéries productrices de carbapénémases nous avons retrouvés un taux de résistance important vis-à-vis des carbapénèmes ; le taux le plus élevé est celui de l'értapénème 94.12% (16/17), suivi par l'imipénème et le méropénème avec un taux de 41.18% (7/17). Concernant d'autre -lactamines les taux de résistance les plus élevés sont enregistrés vis-à-vis de céfépime et de céftazidime 100% (17/17), un taux de 94.12% (16/17), vis-à-vis de l'amoxicilline-acide clavulanique et de céfotaxime et vis-à-vis de la céfoxitine 70.59% (12/17).

Et pour les *pseudomonas sp*, le pourcentage le plus élève dans les taux de résistance vis-à-vis des carbapénèmes est celui de l'értapénème 100% (4/4),suivi par l'imipénème et le méropénème avec un taux de 50% (2/4), et pour les autre -lactamines testé (FEP, CAZ, AMC,CTX, FOX) le taux de résistance est de 100% (4/4).

Discussion

Nous avons détecté les carbapénémases par le Carba NP test modifié chez les bactéries à Gram négatif (*Entérobactéries*, *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter baumannii*) élaboré par **Bakour et al., 2014**. les avantages de ce test peuvent se résumer à l'identification rapide des souches productrices de carbapénémases afin de prendre aussi vite que possible les décisions individuelles et collectives adaptées ;

Détection de l'acidification (virage indicateur coloré) liée à l'hydrolyse spécifique du cycle β -lactame de l'imipénème par les carbapénémases ;

D'aider au choix des tests PCR à réaliser pour la confirmation et la caractérisation définitives des enzymes produites en fonction des classes de Ambler identifiée ;

Cette technique est rapide; rendu en moins de 2 heures en cas de suspicion sur l'antibiogramme, Peu coûteuse (**Nordmann et al., 2012**).

Dans le carba-NP test, nous avons obtenu 21 souches positives. Ce qui consistue un taux 18.10%.

Le test de Hodge modifié permet de détecter les carbapénémases de classes A et D, mais l'inconvénients de cette méthode (**Nordmann et al., 2012**) c'est son manque de spécificité (nombreux faux positifs pour les souches hyper productrices d'AmpC ou de CTX-M) et de sensibilité(**Girlich et al,2012**) (difficulté de détection des souches productrices de NDM). Elle nécessite donc une certaine expérience. L'addition de zinc ($ZnSO_4$ 100 μg /ml) dans le milieu gélosé augmente sa sensibilité ainsi que en ajoutant de la cloxaciline sur le disque d'imipénème (déposer 10 μl d'une solution aqueuse à 75 mg/ml de cloxaciline sur le disque d'imipénème) permet d'éliminer les faux positifs liés à la production de céphalosporinase(CSFM, 2013).

Cette technique est de réalisation longue (48 heures), d'interprétation parfois délicate et finalement peu adaptées aux contraintes cliniques, notamment pour l'isolement rapide des patients porteurs (**Nordmann et al.,2012**).

Dans cette étude 18 souches parmi les 21 souches se sont révélées positives dans le Hodge test.

L'isolement de souches d'entérobactéries produisant une carbapénémase est croissant dans le monde entier. Il s'agit essentiellement des bêta-lactamases de type KPC, des métallo-bêta-lactamases IMP/VIM et plus récemment de la métallo bêta-lactamase NDM-1 et d'OXA-48.

Discussion

K. pneumoniae reste l'espèce d'entérobactérie chez qui la plupart de ces carbapénèmases ont été identifiées. (Nordmann et al.,2010).

Les carbapénèmases décrites chez les entérobactéries appartiennent aux quatre classes connues de bêta-lactamases (classe A, B, C, D de la classification d'Ambler), (Queenan et Bush. 2007; Poirel et al., 2007).

Les plus importantes, cliniquement, sont actuellement les bêta-lactamases de type KPC, IMP/VIM et OXA-48. Les bêta-lactamases de classe A ont une activité qui est totalement ou partiellement inhibée *in vitro* par l'acide clavulanique et le tazobactam alors que les autres types de β -lactamases ne sont pas inhibés par ces inhibiteurs classiques de bêta-lactamases. Les carbapénèmases de classe A, les plus fréquentes et les plus menaçantes, sont les carbapénèmases de type KPC(KPC-2 à KPC-8),(Nordmann et al.,2009).

La première souche exprimant KPC (KPC-1 = KPC-2; *Klebsiella Pneumoniae* carbapénémase) fut identifiée en Caroline du Nord aux États-Unis (Yigit et al.,2001)

KPC-2 hydrolyse toutes les bêta-lactamines bien que les céfamycines et la ceftazidime soient de mauvais substrats. Son activité est partiellement l'acide clavulanique ou le tazobactam. En l'absence de mécanisme de résistance aux carbapénèmes associée, elle confère des degrés variables de résistance aux carbapénèmes. Le plus souvent les souches qui produisent KPC expriment également d'autres bêta-lactamases dont de nombreux types de BLSE (TEM,SHV, CTX-M) et possèdent un certain degré de résistance par imperméabilité(Nordmann et al., 2009).

L'association des gènes KPC à d'autres gènes de résistance aux antibiotiques sur de mêmes structures génétiques explique en grande partie la multi résistance de ces souches. Ces dernière (KPC) ont été très largement rapportées dans le monde (Nordmann et al.,2009). d'autres souches d'entérobactéries KPC ont été très rapportées dans la plupart des états des États-Unis, avec une forte prévalence dans l'état de New York. Dans certains cas, 30 % des souches de *K. pneumoniae*, productrices de KPC, exprimaient une BLSE (Gootz et al., 2009);(Kitchelk et al., 2009) Puis, ces souches ont été très décrites en Israël et en Grèce où elles semblent être, maintenant, endémiques(Leavitt et al., 2010). Elles ont été rapportées également dans la plupart des pays européens de façon sporadique, au Canada, en Amérique

Discussion

du Sud, dans les Caraïbes et en Chine (**Samuelson *al.*, 2009**). En France, une dizaine de souches KPC ont été identifiées (**Barbier *et al.*, 2010**).

En Algérie, ces enzymes sont isolées pour la première fois chez *Acinetabacter baumannii* par Bakour en 2014 (**Bakour *et al.*, 2014**).

Les premières carbapénèmases de classe B (IMP) (ou métallo bêta-lactamases, MBL) avaient été identifiées dans des espèces d'entérobactéries typiquement hospitalières (*Serratia*, *Citrobacter* et *Enterobacter*) au Japon (**Queenan et Bush 2007; Walsh *et al.*, 2008**).

Puis d'autres MBL ont été isolées dans des entérobactéries, dans le monde entier ; il s'agit des nombreuses variétés de bêta-lactamases de type IMP et VIM, GIM-1, KHM-1 et NDM- (**Yong *et al.*, 2009**).

Ce sont des métallo-enzymes qui contiennent des ions zinc dans leur site actif. Ces enzymes hydrolysent fortement toutes les bêta-lactamines à l'exception de l'aztreonam). Leur activité n'est inhibée ni par l'acide clavulanique ni par le tazobactam. Les niveaux de résistance aux carbapénèmes sont assez variables.

Plusieurs épidémies de souches d'entérobactéries MBL ont été identifiées, notamment au Japon, en Italie, en Espagne et en Grèce (**Carmeli *et al.*, 2010 ; Miriagou *et al.*, 2010**).

L'identification de VIM-1 chez *P. mirabilis*, en Grèce, indique une transmission communautaire de ce déterminant de résistance. (**Giamarellou et Poulakou, 2009**).

NDM-1 est l'une des métallo-bêta-lactamases les plus récemment décrites (**Yong *et al.*, 2009**). Elle aurait déjà une diffusion internationale importante, identifiée au moins en Inde, au Pakistan et en Grande-Bretagne.

En Algérie en 2010, à notre connaissance, seuls les gènes VIM-19 et VIM-4, ont été signalés dans 5 souches différentes d'entérobactéries (une *Providencia stuartii*, deux *Escherichia coli* et deux *K. pneumoniae*), (**Robin *et al.*, 2010**).

En ce qui concerne, le gène NDM-1, il a été rapporté pour la première fois en Algérie chez une souche clinique d'*A. baumannii* d'un patient hospitalisé à Oran et transféré à Paris et une autre souche clinique d'*A. baumannii* portant le gène NDM-1 chez un patient hospitalisé en Algérie et rapatrié en Belgique (**Bogaerts et al., 2012**).

La carbapénémase de classe D, OXA-48, décrite tout d'abord chez *K. pneumoniae* (**Poirel et al., 2004**) hydrolyse, par contre, beaucoup plus fortement les carbapénèmes et n'hydrolyse pas les céphalosporines de 3^e génération. Son activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique. OXA-48 est souvent associée à d'autres bêta-lactamases, en particulier des BLSE, ce qui contribue à la multi résistance des souches (**Gülmez et al., 2008**). En l'absence d'autres bêta-lactamase, les souches qui ne produisent qu'OXA-48 peuvent ne présenter qu'une légère diminution de la sensibilité aux carbapénèmes. (**Aktas et al., 2008**).

L'OXA-48 sont par contre maintenant bien établies avec sa diffusion chez *K. pneumoniae* dans de nombreux hôpitaux en Turquie et dans de nombreux pays du pourtour méditerranéen (Liban, Tunisie, Israël, Égypte, France) en Grande- Bretagne, en Inde et en Argentine (**Carrër et al., 2010**).

En Turquie, plusieurs épidémies d'infections nosocomiales sont associées à ce type de souches.

Ce problème a été aggravé par l'occurrence de carbapénémase dans la communauté (**Barguigua et al., 2012**) et dans l'environnement (**Potron et al., 2011**) suggérant qu'OXA-48 soit endémique dans ce pays (**Hays et al., 2012**). Plus récemment, l'identification du gène du BlaOXA-48 dans un isolat de *K. pneumoniae* a été rapportée en Algérie (**Djahmi et al., 2014**) et une autre étude a rapporté la description d'OXA-23 et OXA-72 chez *Acinetobacter baumannii* isolées entre Mars 2010 et Juillet 2011 au niveau de deux hôpitaux (CHU de Sétif et de Tizi-Ouzou), (**Bakour et al., 2012**).

Conclusion

Conclusion

Au cours de ces dix dernières années, les bactéries à Gram négatif multi-résistantes sont devenues un problème majeur de santé publique. Nous assistons dans le monde à une augmentation constante du pourcentage des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes. En effet, le nombre de travaux réalisés et en cours de réalisation sur la résistance aux antibiotiques est très important. Le danger auquel l'humanité est confrontée aujourd'hui devient alarmant.

Au terme de cette étude, nous avons effectué 151 prélèvements par écouvillonnage rectal chez des patients dans différents services de l'hôpital d'Amizour durant une période de deux mois.

116 bacilles à Gram négatif dont 108 souches d'entérobactéries, 14(12,07%) souches de *Pseudomonas sp* et 4(3,45%) souche d'*Acinetobacter baumannii* ont été isolées. Les résultats d'identification ont montré une prédominance d'*Escherichia coli* 38(32,76%). Suivi de *Klebsiella sp19* (16,38%) et 12(10,34%) de *Citrobacter sp*.

Parmi les 116 souches isolées ; 21 souches sont révélées productrices de carbapénèmes le pourcentage le plus élevé est celui d'*Escherichia coli* qui est de 33.33 % suivi de celui de *klabsiella sp* et *pseudomonas sp* qui est de 19.05%.

Le taux noté durant notre étude concorde avec les résultats obtenus en Algérie. (**Djahmi et al., 2014**).

Les 21 souches isolées sont productrices de carbapénèmes (le test carba NP positif) Signifiant la production de carbapénèmes, la mise en évidence d'une acidification du milieu lors de l'hydrolyse de l'IMP par une carbapénèmes. L'indicateur de PH change de couleur du rouge au jaune/orange lorsque le milieu devient acide, ce qui traduit la présence d'une carbapénèmes.

Le test de Hodge modifié est positif pour 18 souches et cela par l'observation d'une déformation de la zone d'inhibition entre les stries des souches et la culture de *E.coli*. (Observation d'une image de trèfle). Ce test permis de mettre en évidence la production de

Conclusion

carbapénèmases. Il est très sensible mais peu spécifique, peu coûteux, et bonne détection des souches productrices de carbapénèmases de type OXA-48 et KPC, et enfin pour les trois souches (*Enterobacter sp*, *E coli*, *klebsiella sp*) le test de Hodge est négatif.

Concernant le profil de sensibilité des souches aux antibiotiques, les souches productrices de carbapénèmases sont résistantes à l'Ertapénème 20/21(95,24%), Méropénème 9/21(42,86%), et à l'Imipenème 8/21(38,10%).

La réalisation de cette étude devrait sensibiliser le personnel soignant à la fréquence accrue de l'antibiorésistance souvent secondaire à des traitements antibiotiques inappropriés. La prescription rationnelle et pragmatique des antibiotiques s'avère indispensable et recommandable.

Ce travail ouvre de nombreuses perspectives, il serait intéressant de compléter cette étude en :

- Etudiant de certains facteurs de risque (tel que l'âge, le sexe du patient, antibiothérapie, l'hospitalisation préalable et diabète, etc.) dans l'acquisition de souches résistantes
- Caractérisant les gènes de résistance par PCR et séquençage.
- Recherchant un lien clonal entre les souches par les techniques de typage moléculaire.

Références bibliographiques

A

Aktas Z, Kayacan CB, Schneider I. (2008). Carbapenem- hydrolyzing oxacillinase OXA-48, persists in Istanbul, Turkey. *Chemother.* **54**:101-6.

B

Bakour S, Kempf M, Touati A, AitAmeur A, Haouchine D, Sahli F, Rolain JM. (2012). Carbapenemase-producing *Acinetobacterbaumanni* in two university hospitals in Algeria. *J Med Microbiol.* **61**:1341-3

Bakour S, Loucif L, Brunel JM, Touati A, Rolain JM. (2015) Rapid identification of Carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a Modified Carba NP test.

Barbier F, Ruppé E, Giakkoupi P. (2010). Genesis of KPC-producing *Klebsiella pneumonia* after in vivo transfer from an imported Greek strain. *Euro Surveill.* **15**:19457.

Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Zerouali K, Timinouni M. (2012). Emergence of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolates in the Moroccan community. *DMI D.* **73(3)**:290–291.

Bogaerts P, Rezende de CR, Roisin S. (2012). Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in Belgium. *J Antimicrobial Chemother.* **67**:1552-3.

Bush K. (2001). New beta-lactamases in Gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clinical Infectious Disease.* **32**:1085-9.

Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **39**:1211- 1233.

C

Canton R, Coque T, and Baquero F. (2003). Multi-resistant Gram-negative bacilli: from epidemics to endemics. *Emerging Infectious Diseases.* **16**:315.

Références bibliographiques

Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G. (2010). Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives: therapeutic approach and infection control. *Clin Microbiol Infect.* **16**:102-11.

Carrër A, Poirel L, Yilmaz M. (2010). Spread of OXA-48-encoding plasmid from Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother.* **54**:1369-73.

Cornaglia G, Rossolini GM. (2010). The emerging threat of acquired carbapenemases in gram-negative bacteria. *Clinical microbiology and infection.* **16(2)**: 99-101.

(Ref 26387)

D

DiPersio J, Deshpande L, Biedenbach D, Toleman M, Walsh T, Jones R. (2005). Evolution and dissemination of extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology and molecular report from the SENTRY antimicrobial surveillance Program (1997–2003). *DM ID.* **51(1)**:1–7.

Denis F, Ploy MC, Martin C, Bengen et Quenten R. (2007). *Bactériologie médicale : techniques usuelles.* Edition : Elsevier Masson. 70p

Djahmi N, Dunyach-Remy C, Dekhil M, Sotto A, and Lavigne J. (2014). Epidemiology of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean Countries. *34*:22-25.

Dortet L, Cuzon G, Nordmann P. (2013). Dissemination of carbapenemase producing Enterobacteriaceae in France, *J Antimicrob Chemother.*

G

Grall N, Andremont A, Armand-Lefèvre L. (2011). Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? *Journal des anti-infectieux.* **16**:1-16.

Godreuil S, Torrea G, Terru D, Chevenet F, Diagbouga S, Supply P, Van de Perre P,

Carriere C, Banuls A L. (2007). First Molecular Epidemiology Study of *Mycobacterium tuberculosis* in Burkina Faso. *J. Clin. Microbiol.* **45(3)**:921–927.

Gootz TD, Lescoe MK, Dib-Hajj F. (2009). Genetic organization of transposase regions surrounding *bla* KPC carbapenemase gene on plasmids from *Klebsiella* strains isolated in a New York City hospital. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**:1998-2004.

Références bibliographiques

Giamarellou H, Poulakou G. (2009). Multidrug-resistant Gram-negative infections: what are the treatment options? *Drugs*. **69**:1879-901.

Gülmez D, Woodford N, Palepou MF. (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**:523-6.

Girlich D, Poirel L, Nordmann P. (2012). Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol*. **50**: 477-9.

Girlich D, Poirel L, Nordmann P. (2013). Comparison of the SUPERCARBA, CHROMagar KPC, and Brilliance CRE screening media for detection of *Enterobacteriaceae* with reduced susceptibility to carbapenems. *DM I D*. **75(2)**:214-7.

H

Hays C, Benouda A, Poirel L, Elouennass M, Nordmann P. (2012). Nosocomial occurrence of OXA-48-producing enterobacterial isolates in a Moroccan hospital. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **39(6)**:545–547.

J

Jacoby GA., Bush K. (2005). Beta-lactamase nomenclature. *J. Clin Microbiol*. **43(12)**:6220.

K

Kitchelk B, Rasheed JK, Patel JB. (2009). Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in the United States: clonal expansion of MLST sequence type 258. *Antimicrob Agents Chemother*. **53**:3365-70.

Kontopoulou K, Protonotariou E, Vasilakos K, Kriti M, Koteli A, Antoniadou E. (2010). Hospital outbreak caused by *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-2 - lactamase resistant to colistin. *J Hosp Infect*. **76(1)**:70-3.

Références bibliographiques

ℒ

Leavitt A, Chmelnitsky I, Ofek I. (2010). PlasmidpKqIL encoding KPC-3 and TEM-1 confers carbapenem resistance in an extremely drug-resistant epidemic *Klebsiella pneumoniae* strain. *J Antimicrob Chemother.* **65**:243-8.

Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, Docquier JD, Chong Y. (2010). Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. *J Microbiol Methods.* **83**:149–15.

ℳ

Mayoral G, Ferreyra M, Eden A, Gueudet P, Miquel C et Lecaillon E. (2010). Evolution de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération de 2000 à 2008 au centre hospitalier de Perpignan. *Pathologie Biologie.* **58**:7-10.

Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M. (2010). Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clin Microbiol Infect.* **16**:11222.

ℒ

Nordmann P, Carrer A. (2010). Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. *Arch Pediatr* **17**: S154-62.

Nordmann P, Poirel L. (2013). Strategies for identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother.* **68(3)**:487-9.

Nordmann P, Cuzon G, Naas T. (2009). The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis.* **9**:228-36.

Nordmann P, Naas T, Poirel L. (2011). Propagation mondiale de carbapenemase de production *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* **17 (10)**: PMC3310682.

Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG. (2012). European Network on Carbapenemases. Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect.* **18(5)**:432-8.

Références bibliographiques

P

Pantel H, Marchandin M-F, Prère A, Boutet-Dubois N, Brieu-Roche A. (2014). Gaschet & A. Davin-Regli & A. Sotto & J.-P. Lavigne Received: 12 October 2014 / Accepted: 7 December 2014 # Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. (2007). Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol.* **2**:501-12.

Poirel L, Héritier C, Tolun V. (2004). Emergence of oxacillinase mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* **48**:15-22.

Potron A, Poirel L, Bussy F, Nordmann P. (2011). Occurrence of the carbapenem-hydrolyzing β -lactamase gene *bla*OXA-48 in the environment in Morocco. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **55**(11):5413–5414.

Q

Queenan AM, Bush K. (2007). Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol.* **20**:440-58.

Queenan K, Bush J. Pharmaceutical Research & Development, L.L.C, Raritan, New Jersey 08869. (2007). Carbapenemases: the Versatile beta-Lactamases. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS.* p.440–458.

R

Randrianirina F., Vedy S., Rakotovo D., Ramarokoto C.E., Ratsitohaina H., Carod J.F., Ratsima E., Morillon M. et Talarmin A. (2009). Role of contaminated aspiration tubes in nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-2 and CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamases. *Journal of Hospital Infection.* **72** : 23-29.

Robin F, Aggoune-Khinache N, Delmas J, Naim M, Bonnet R. (2010). Novel VIM metallo-beta-lactamase variant from clinical isolates of Enterobacteriaceae from Algeria. *Antimicrob Agents Chemother.* **54**: 466-70.

Références bibliographiques

S

Samuelsen O, Naseer U, Tofteland S. (2009). Emergence of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates of sequence type 258 producing plasmid-mediated KPC carbapenemase in Norway and Sweden. *J Antimicrob Chemother.* **63**:654-8.

Struelens MJ, Monnet DL, Magiorakos AP. (2010). Enterobacteries productrices de New Delhi metallo-beta-lactamase NDM-1 : émergence et réponse en Europe. *Eurosurveillance.* **15**(46):1-8.

Schwaber MJ, Carmeli Y. (2008). *Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a potential threat.* *JAMA.* **300**(24):2911-3.

W

Walsh TR. (2008). Clinically significant carbapenemases: an update. *Curr Opin Infect Di.* **21**:367-71.

Y

Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ. (2001). Novel carbapenem hydrolyzing beta-lactamase KPC-1 from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* **45**:1151-61.

Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y. (2002). Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol.* **40**: 3798-3801.

Yong D, Toleman MA, Giske CG. (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**:5046-54.

Z

Références bibliographiques

Zarkotou O, Pournaras S, Voulgari E, Chrysos G, Prekates A, Voutsinas D. (2010). Risk factors and outcomes associated with acquisition of colistin-resistant KPC producing *Klebsiella pneumoniae*: a matched case-control study. *J Clin Microbiol.* **48(6):**2271-4.

Annexes

Annexe I

Questionnaire établi pour le service de pédiatrie

Hôpital : Pédiatrie

Code :	Hôpital :	Service :	Salle :
Date d'amission :		Motif d'admission :	
Age :	Sexe :	Cathéter : Oui/Non	
Grossesse à terme: oui/non		Prématuré : oui/non	
Nbre de semaines :		Nbre de semaines :	
Type d'accouchement : Voie basse Césarienne		Allaitement maternel : oui / non	Poids à la naissance:
Jumeaux : oui/non		Malformation oui/non	Maladie sous-jacente :
Prélèvement admission :		Date de prélèvement :	
Séjour en réanimation		Date :	Hôpital :
Antécédents chirurgicaux :		Date :	Hopital
Patient transféré d'un autre service :		Date :	Service :
patient transféré d'un autre hôpital Oui/Non		Date :	Hôpital :
Antibiothérapie dans les 3 mois précédents :Oui/Non	Date :	ATB administrés :	

*Annexe II***Questionnaire hôpital d'Amizour :**

Code :		Hôpital :		Service :		Salle :	
Date d'admission :				Motif d'admission :		Type de prélèvement :	
Age :		Sexe :		Sondage : Oui/Non		Cathéter : Oui/Non	
Voyage à l'étranger : Oui/Non				Date :		Pays :	
Maladie sous-jacente :				Antécédents chirurgicaux :		Date :	
Chimiothérapie : Oui/Non				Hémodialyse : Oui/Non		Immunosuppresseurs : Oui/Non	
Maladie hépatique		Diabète		Transplantation		Ulcère gastrique	
Patient transféré d'un autre service						Date de prélèvement	
Précisez le service							
Séjour en réanimation							
Hospitalisation antérieure : Oui/Non				Date :		Hôpital :	
Patient transféré d'un autre hôpital				Date :		Hôpital :	
Antibiothérapie en cours : Oui/Non				Date :		ATB administrés :	
Antibiothérapie dans les 3 mois précédents : Oui/Non				Date :		ATB administrés :	

Annexe III

Tableau I : Composition des milieux de culture (pour 1l d'eau distillée, en g/L) (Guiraud, 2003)

Bouillon nutritif :

Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Extrait de viande	5g

PH : 7,2

Gélose Hektoen :

Protéose peptone	12g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	5g
Sels biliaires	9g
Citrate de fer ammoniacal	1.5g
Salicine	2g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Fuchsine acide	0.04g
Bleu de bromothymol	0.065g
Agar	14g

PH : 7.5

GéloseEMB :

Peptone	10 g
Lactose	10 g
Phosphate bipotassique	2g
Eosine	0.4g
Bleu de méthylène	0.065g
Gélose	15g

PH : 7.1

Gélose Mac Conkey :

Annexes

Peptone de caséine	17g
Peptone de viande	03g
Lactose	10g
Mélange de sels biliaires	1,5g
Chlorure de sodium	05g
Rouge neutre	0,03g
Cristal violet	0,001g

Annexes

PH : 7,4

Gélose Mueller Hinton :

Infusion de viande de boeuf	3g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar	17g

PH: 7,4

Gélose TSI(Tree Sugar and Ion):

Extrait de viande de boeuf	3g
Extrait de levure	3g
Peptone tryptique	20g
Chlorure de sodium	5g
Citrate ferrique	0.3g
Thiosulfate de sodium	0,3g
Lactose	10g
Glucose	1g
Saccharose	10g
Rouge de phénol	0,05g
Agar	12g

PH : 7.4

Mannitol- Mobilité :

Peptone	20g
Nitrate de potassium	1g
Mannitol	2g
Rouge de phénol	0,04g

PH : 8,1

Annexes

Milieu de Citrate de Simmons :

Citrate de sodium	2g
Chlorure de sodium	5g
Sulfate de magnésium	0,2g
Phosphate monoammoniaque	1g
Phosphate bipotassique	1g
Bleu de bromothymol	0,08g
Agar	15g

PH : 7.0- 7.2

Bouillon nitraté :

Bouillon nutritif	1L
Nitrate de potassium	1g

Eau peptoné :

Annexes

Peptone exempte d'indole	15g
Chlorure de sodium	5g

PH : 7,2

Milieu Urée-Indole :

L-tryptophane	3g
Phosphate monopotassique	1g
Phosphate bipotassique	1g
Chlorure de sodium	5g
Urée	20g
Alcool à 95	10ml
Rouge de phénol	0,025g

PH : 7

Milieu Clark-Lubs :

Peptone trypsique de viande	5g
Phosphate bipotassique	5g
Glucose	6g

PH : 7

Gélose nutritive :

Extrait de viande	5g
Peptone	10g

Annexes

Chlorure de sodium	5g
Agar	20g

PH: 7

Composition des réactifs utilisés

Réactif de Griess (NRI et NRII) :

NRI :

Acide sulfanilique	0, 8ml
Acide acétique 5N	100ml

NRII :

Diméthylamine	0, 6ml
Acide acétique 5N	100ml

Réactif de Kovacs :

p-diméthylaminebenzaldéhyde	10ml
Acide chloridrique	50ml
Alcool amylique	150ml

Réactifs de Voges-Proskauer (VPI-VPII) :

VPI :

-naphtol	6g
Annexes	
Alcool à 90°	100 ml

VPII:

NaOH 4N

Rouge de méthyle (RM) :

Rouge de méthyle	0,5g
Alcool éthylique à 60%	100 ml

Annexe IV

Résultats d'identification par la galerie biochimique (classique).

N	code	Nit	Glu	Lac	H2S	Man	Mob	Indole	VP	RM	Cit	Urée	Couleur	ESPECE
1	Ch2cop	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	Bleu	<i>Citrobacter diversus</i>
2	Ch2cog	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
3	Ch2cb	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	Crème	<i>Proteus morganii</i>
4	Ch4cj	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
5	Ch4cg	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	Crème à vert	<i>Pseudomonas sp</i>
6	Ch5cob	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
7	Ch5cj	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
8	Ch8cob	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
9	Ch9cr	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
10	Ch15cr	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	Bleu	<i>Citrobacter diversus</i>
11	Ch17ci	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
12	Ch17cr	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
13	Ch18crp	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	Bleu	<i>Citrobacter freundii</i>
14	Ch19cbl	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	Bleu	<i>Enterobacter sp</i>
15	Ch19cbr	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	Bleu	<i>Enterobacter hafiae</i>
16	Ch20cr	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	bleu	<i>Edwarsiella tarda</i>
17	Ch20cbr	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	bleu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
18	Ch21cbl	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	Crème	<i>Acinetobacter sp</i>
19	Ch21cr	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Annexe IV

Résultats d'identification par la galerie biochimique (classique).

20	Ch23cbr	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirchia coli</i>
21	Ch23cr	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
22	E1cr	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	Bleu	<i>Enterobacter sp</i>
23	E2i	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	Crème	<i>Pseudomonas sp</i>
24	E3r	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	Bleu	<i>Enterobacter sp</i>
25	E4rf	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Escherichia coli</i>
26	E4rc	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	crème	<i>Acinetobacter spp</i>
27	E5i	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
28	E6be	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
29	E7i	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
30	E8i	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
31	E9i	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
32	E9r	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
33	E10bl	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	bleu	<i>Enterobacter aerogenes</i>
34	E10rc	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	bleu	<i>Citrobacter diversus</i>
35	E10rf	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	Crème à vert	<i>Pseudomonas sp</i>
36	E11rf	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	crème	<i>Pseudomonas sp</i>
37	E11gp	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	Crème à vert	<i>Pseudomonas sp</i>
38	E13rc	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	Bleu	<i>Enterobacter aerogenes</i>
39	E13rf	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
40	M4rc	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	Bleu	<i>Providencia rettgeri</i>

Annexe IV

Résultats d'identification par la galerie biochimique (classique).

41	M4rf	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	Bleu	<i>Providocia sp</i>
42	M4bl	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	Crème à vert	<i>Pseudomonas sp</i>
43	M5r	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	Bleu	<i>Citrobacter sp</i>
44	M6r	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	Bleu	<i>Enterobacter sp</i>
45	M6bl	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+		Bleu	<i>Enterbacter sp</i>
46	M8bl	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	Bleu	<i>Citrobacter sp</i>
47	M8r	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu muqueuse	<i>klebsiella pneumoniae</i>
48	M9r	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	Crème	<i>Acinetobacter spp</i>
49	M9bl	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
50	M10bl	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
51	M10r	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	Bleu à halo marron	<i>Proteus morganii</i>
52	M11r	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	Bleu	<i>Enterobacter hafiae</i>
53	M12bl	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	Bleu	<i>Enterobacter agglomerens</i>
54	M12br	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	bleu	<i>Enterobacter hafiae</i>
55	M13bl	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	bleu	<i>Citrobacter diversus</i>
56	M13rf	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
57	M14br	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
58	M14bl	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	Crème	<i>Proteus sp</i>

Annexe IV

Résultats d'identification par la galerie biochimique (classique).

59	M14r	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
60	M15ci	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	Bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
61	M16r	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu métallique	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
62	M16br	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	Crème	<i>Pseudomonas sp</i>
63	M17bl	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	Crème à vert	<i>Pseudomonas sp</i>
64	M17br	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	Crème à vert	<i>Pseudomonas sp</i>
65	M19bl	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	crème	<i>Pseudomonas sp</i>
66	M22bl	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	Bleu	<i>Morganella morganii</i>
67	O1r	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
68	O1bl	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
69	O1i	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
70	O2r	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
71	O3bl	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	Crème à vert	<i>Aeromonas hydrophilia</i>
72	O3r	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	Crème à marron	<i>Citrobacter freundii</i>
73	O11rc	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	Bleu muqueuse	<i>Citrobacter diversus</i>
74	O12bl	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
75	O13be	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	Crème	<i>Proteus mirabilis</i>
76	O16r	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncé	<i>Eschirichia coli</i>
77	O17r	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	Bleu métallique	<i>Serratia marcesens</i>

Annexe IV

Résultats d'identification par la galerie biochimique (classique).

78	O18rc	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu avec centre blanc	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
79	O18rf	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
80	O19r	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	Rose claire	<i>Proteus rettgeri</i>
81	O19bl	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu avec centre blanc	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
82	O20bl	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
83	O20r	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	Bleu métallique	<i>Proteus vulgaris</i>
84	O21rc	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	Bleu	<i>Citrobacter diversus</i>
85	O21rf	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	Bleu métallique	<i>Proteus vulgaris</i>
86	O21bl	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
87	O22rf	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
88	O22rc	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	Bleu métallique	<i>Citrobacter diversus</i>
89	O23r	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	Crème à vert	<i>Pseudomonas sp</i>
90	O23br	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+/-	Bleu	<i>Serratia marcesens</i>
91	O23bl	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Bleu métallique	<i>Eschirichia coli</i>
92	O24bl	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
93	P1r	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	Bleu muqueuse	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
94	P3i	+	+	+	+/-	+	+	+	-	+	-	+/-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
95	P7bl	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	Crème à vert	<i>Proteus mirabilis</i>
96	P9r	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
97	P9be	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Annexe IV

Résultats d'identification par la galerie biochimique (classique).

98	P12	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Bleu	<i>Eschirichia coli</i>
99	P13bl	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	Bleu	<i>Serratia sp</i>
100	P13br	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	Bleu	<i>Serratia sp</i>
101	P14g	+/-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	Crème à vert	<i>Pseudomonas sp</i>
102	P15r	+/-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	Crème à vert	<i>Pseudomonas sp</i>
103	R6br	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+/-	crème	<i>Acinetobacter sp</i>
104	R7bl	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
105	R7rc	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
106	R8bl	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
107	U11r	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
108	U11bl	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
109	U12r	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
110	U13rc	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	bleu	<i>Citrobacter diversus</i>
111	U14bl	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	Crème à vert	<i>Pseudomonas sp</i>
112	U14rf	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
113	U14rc	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
114	U14br	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	Rose foncée	<i>Eschirichia coli</i>
115	U15rc	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Bleu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
116	U15bl	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	rose	<i>Eschirichia coli</i>

Annexes

Annexe V

Tableau N°5 : la liste des carba NP test non interprétable

Code	AMC	FOX	CTX	CAZ	FEP	IMP	ERT	MEM	Carba NP test	Hodge test	Test EDTA	Souche
M6r	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	23(R)	22(R)	21 (R)	N/I	-	-	<i>Enterobacter sp</i>
M8bl	6 (R)	17(I)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	29(S)	27(S)	25(S)	N/I	-	-	<i>Citrobacter sp</i>
M10bl	6 (R)	6 (R)	14(R)	6 (R)	6 (R)	23(I)	12(R)	6 (R)	N/I	-	-	<i>Eschirichia coli</i>
M10r	25(S)	17 (I)	6 (R)	6 (R)	12(R)	23(I)	6 (R)	6 (R)	N/I	-	-	<i>Proteus morganii</i>
M4bl	6 (R)	15(R)	6 (R)	13 (R)	6 (R)	16 (R)	13 (R)	12(R)	N/I	-	-	<i>Pseudomonas sp</i>
M5r	15(R)	18 (I)	23(I)	14 (R)	24(S)	21(I)	23(R)	22(I)	N/I	-	-	<i>Citrobacter sp</i>
M9r	30(S)	12 (R)	22 (R)	6 (R)	11(R)	30(S)	21 (R)	17 (I)	N/I	-	-	<i>Acinetobacter spp</i>
M9bl	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	26(S)	6 (R)	6 (R)	N/I	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M17bl	6 (R)	6 (R)	13 (R)	6 (R)	14 (R)	19 (R)	6 (R)	22(S)	N/I	-	-	<i>Pseudomonas sp</i>
E4rc	15(R)	17 (I)	18 (R)	17(R)	14 (R)	20 (R)	21 (R)	17 (I)	N/I	-	-	<i>Acinetobacter spp</i>
E6be	25(S)	6 (R)	16 (R)	6 (R)	6 (R)	26(S)	6 (R)	6 (R)	N/I	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
E7i	30(S)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	29(S)	6 (R)	6 (R)	N/I	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Ch8rf	7 (R)	18(I)	19(R)	16(R)	18(R)	21(I)	23(R)	20(I)	N/I	-	-	<i>Eschirichia coli</i>
Ch18rp	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	11(R)	N/I	-	-	<i>Citrobacter freundii</i>
Ch20r	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)	19(R)	6 (R)	6 (R)	N/I	-	-	<i>Edwarsiella tarda</i>
Ch23r	20(I)	15(I)	20(R)	19(R)	19(R)	6 (R)	17(R)	20(I)	N/I	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Ch21bl	18(I)	15(I)	13(R)	20(R)	14(R)	11(R)	9(R)	16(R)	N/I	-	-	<i>Acinetobacter sp</i>
Ch21br	6(R)	14(R)	22(R)	18(R)	18(R)	20(I)	16(R)	20(I)	N/I	-	-	<i>Eschirichia coli</i>

Annexes

P9be	6(R)	6(R)	23(I)	17(R)	20(R)	20(I)	30(S)	22(S)	N/I	-	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>
P9r	6(R)	6(R)	23(I)	6(r)	6(R)	28(S)	16(R)	23(S)	N/I	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
P15r	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	24(S)	12(R)	19(I)	N/I	-	-	<i>Pseudomonas sp</i>
P14g	6(R)	6(R)	6(R)	9(R)	6(R)	26(S)	21(R)	22(S)	N/I	-	-	<i>Pseudomonas putrificins</i>
P13br	6(R)	11(R)	15(R)	12(r)	20(R)	8(R)	9(R)	13(R)	N/I	-	-	<i>Serratia sp</i>
P13bl	26(S)	6(R)	28(S)	6(R)	6(R)	28(S)	8(R)	8(R)	N/I	-	-	<i>Serratia sp</i>
O1i	6(R)	19(I)	6(R)	6(R)	6(R)	20(I)	6(R)	31(S)	N/I	-	-	<i>Eschirichia coli</i>
O1bl	6(R)	24(I)	6(R)	6(R)	6(R)	26(S)	23(R)	28(S)	N/I	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
O1r	6(R)	24(S)	28(S)	8(R)	23(I)	25(S)	23(R)	30(S)	N/I	-	-	<i>Eschirichia coli</i>
O11rc	10(R)	12(R)	18(R)	17(R)	11(R)	21(I)	19(R)	18(I)	N/I	-	-	<i>Citrobacter diversus</i>
O12bl	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	12(R)	22(I)	18(R)	21(I)	N/I	-	-	<i>Eschirichia coli</i>
O16r	6(R)	22(S)	23(I)	22(I)	19(R)	22(I)	25(R)	23(S)	N/I	-	-	<i>Eschirichia coli</i>
O17r	6(R)	6(I)	6(R)	6(R)	6(R)	23(I)	24(R)	6(R)	N/I	-	-	<i>Serratia marcesens</i>
O18rc	11(R)	17(I)	24(I)	13(R)	19(R)	28(S)	21(R)	20(I)	N/I	-	-	<i>Serratia marcesens</i>
O19r	9(R)	14(R)	20(R)	17(R)	21(R)	14(R)	16(R)	15(R)	N/I	-	-	<i>Proteus rettgeri</i>
O20bl	6(R)	19(I)	17(r)	14(R)	23(I)	24(S)	27(I)	26(S)	N/I	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
O20r	15(R)	15(I)	26(S)	12(R)	17(R)	19(I)	21(R)	20(I)	N/I	-	-	<i>Proteus vulgaris</i>
O22rf	14(R)	19(I)	16(R)	17(R)	20(R)	16(R)	12(R)	17(I)	N/I	-	-	<i>Eschirichia coli</i>
O22rc	17(I)	16(I)	15(R)	18(R)	13(R)	21(I)	21(R)	18(I)	N/I	-	-	<i>Citrobacter diversus</i>
O24bl	15(R)	10(R)	6(R)	13(R)	8(R)	13(R)	22(R)	14(R)	N/I	-	-	<i>Eschirichia coli</i>
U11bl	11(R)	6(R)	20(R)	14(R)	12(R)	15(R)	21(R)	17(I)	N/I	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
U12r	19(I)	22(S)	23(S)	19(R)	17(R)	22(I)	23(R)	28(S)	N/I	-	-	<i>Eschirichia coli</i>

Annexes

Annexes

Annexe VI

Tableau II : Diamètre des zone d'inhibition édité par le (EUCAST 2015)

Antibiotique	Abrévia-tion	Charge du disque en µg	Diamètre critique (mm)		Les concentrations critiques (mg/L)	
			S	< R	S	>R
Céfotaxime	CTX	30 µg	26	<23	1	>2
Ceftazidime	CAZ	30 µg	26	<21	1	>8
Céfépime	FEP	30 µg	24	<21	4	>8
Céfoxitine	FOX	30 µg	22	<15	8	>32
Amoxicilline/ac. clavulanique	AMC	20/10 µg	21	<16	2/2	>8/2
Imipénème	IMP	10 µg	24	<17	2	>8
Ertapénème	ETP	10 µg	28	<26	2	>8
Meropénème	MEM	10 µg	22	<15	0.5	>1
Aztréonam	ATM	30 µg	≥27	<21	4	>8
Témocilline	TEM	30 µg	20	<20	8	>8

Résumé

Objectif : La dissémination mondiale de bactéries à Gram négatif productrices de Carbapénémase (BPC) représente une menace de santé publique majeure. Le but de cette étude est d'évaluer le portage fécal de bactéries à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes chez des patients au niveau des services : pédiatrie, oncologie, médecine interne, externe, urgence, réanimation, et chirurgie de l'hôpital d'Amizour à Bejaia.

Méthode: des écouvillonnages rectaux sont réalisés chez 151 patients. L'identification des souches est réalisé par galerie classique et la détection des carbapénémase est effectuée par le carba NP test Modifié et le test de Hodge modifié. La sensibilité des souches productrices de carbapénémases est évaluée par l'antibiogramme standard.

Résultats : Sur 116 souches de bacilles à Gram négatif identifiées, incluant 37 souches sont isolées présentant des taux importants de résistance vis-à-vis des carbapénèmes et 18 souches sensibles aux carbapénèmes. L'étude de ces souches par les tests phénotypique (carba NP test et hodge test Modifié) ont montré des résultats positive, 21 souches et 18 souches testées respectivement. Les espèces retrouvées majoritaire sont *Escherichia coli* d'un taux de 33.33% suivi de *Klebsiella sp et pseudomonas sp* (19.05%). les souches productrices de carbapénémases sont résistante à l'Ertapénème 20/21(95,24%), Méropénème 9/21(42,86%), et à l'Imipenème 8/21(38,10%).

Conclusion : Le pourcentage des porteurs de carbapénémases est de 11,92%. Le seul facteur de risque d'acquisition de carbapénémase déterminé est l'antibiothérapie préalable.

Mots clés : Portage fécal, -lactamines, bacilles Gram négatif, carbapénémase, Hôpital.

Abstract

Background: Worldwide dissemination of carbapénémase-producing Gram-negative Bacteria (CGNB) represent a major public health problem. The aim of this study is to evaluate the fecal carriage of Gram-negative bacteria resistant to carbapénèmes in patient at podiatry, oncology, internal medicine, external, urgency, reanimation, and surgery wards of the Amizour's hospital of Bejaia.

Method: Rectal swabs are conducted with 150 patients. The identification of the isolates allowed the detection of the carbapénémase by the carba NP Modifié test and the test of Hodge modified, and study sensitivity of the producing strains of carbapénémases by the standard antibiogramme.

Results: On 116 strains of bacilli with negative Gram identified, including 37 strains are isolated showing significant rates from resistance with respect to the carbapénème and 18 sensitive to the carbapénèmes. The study of these strains by the phenotypical test showed result positive, 21 strains and 18 strains tested respectively. The majority found species are *Escherichia coli* (33.33%), *Klebsiella sp and pseudomonas sp* (19.05%).

The strains carbapénémases-producing are sensitive to the Ertapénème 20/21(95,24%), Méropénème 9/21(42,86%) and Imipenème 8/21(38,10%).

Conclusion: The percentage of the carriers of carbapénémase is 11, 92%. The only factor of given risk of acquisition of carbapénémase is the preliminary antibiothérapie.

Key words: fecal carriage, - lactams, negative Gram bacilli, carbapénémases, Hospital.

